

BEATA ULEWICZ-MAGULSKA



**SELEN W ROŚLINNYCH SUROWCACH LECZNICZYCH,
ZAWARTOŚĆ, ROZMIESZCZENIE
I WZAJEMNE RELACJE Z INNYMI PIERWIASTKAMI**

*Rozprawa doktorska
wykonana w Katedrze i Zakładzie Chemii Analitycznej
Akademii Medycznej w Gdańsku*

Promotor: Prof. dr hab. Marek Wesółowski

Gdańsk 2008

SPIS TREŚCI

WSTĘP	5
CZĘŚĆ TEORETYCZNA	8
I. Właściwości fizykochemiczne selenu	9
II. Obieg selenu w środowisku naturalnym człowieka	11
III. Rola selenu w organizmie człowieka	12
1. Rozmieszczenie selenu w organizmie człowieka	12
2. Przemiany metaboliczne selenu	13
3. Selen w związkach biologicznie czynnych	14
3.1. Peroksydaza glutationowa	15
3.2. 5-Dejodynaza tetrajodotyroniny	15
3.3. Synergizm z witaminą E	16
4. Udział selenu w mechanizmach obronnych organizmu człowieka	16
4.1. Selen jako antykancerogen	17
4.2. Detoksyfikacyjna rola selenu	18
4.3. Pozostałe aspekty działania selenu	19
IV. Konsekwencje niedoboru selenu w organizmie człowieka	20
V. Zalecane dawki selenu	21
VI. Selen w pożywieniu	22
1. Produkty spożywcze pochodzenia roślinnego	23
2. Produkty spożywcze pochodzenia zwierzęcego	25
3. Mleko, produkty mleczne i mleko ludzkie	28
4. Woda pitna i napoje	28
VII. Spożycie selenu w różnych krajach	29
VIII. Suplementacja selenem	29
1. Sposoby suplementacji selenem	29
2. Suplementy diety zawierające selen	30
IX. Selen w roślinach	31
1. Biochemia selenu u roślin	31
2. Zawartość selenu w roślinach	33
X. Metody oznaczania selenu	35
1. Spektrofotometria	36

2. Spektrofluorymetria	37
3. Spektrometria atomowa	38
3.1. Absorpcyjna spektrometria atomowa (AAS)	38
3.1.1. Technika atomizacji płomieniowej (F-AAS)	39
3.1.2. Technika atomizacji elektrotermicznej (ET-AAS)	39
3.1.3. Technika atomizacji wodorkowej (HG-AAS)	41
3.2. Emisyjna spektrometria atomowa (AES)	42
4. Spektroskopia promieniowania rentgenowskiego	42
5. Aktywacja neutronowa (NAA)	43
6. Spektrometria mas (MS)	44
7. Woltamperometria i polarografia	44
8. Metody chromatograficzne	45
8.1. Chromatografia gazowa (GC)	45
8.2. Chromatografia cieczowa (LC)	46
8.3. Metody chromatografii cieczowo-gazowej (GLC)	46
9. Metoda z zastosowaniem rekombinantów DNA	47
CEL PRACY	48
CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	50
1. Analizowany materiał	51
2. Przygotowanie materiału do analizy	51
3. Oznaczanie selenu	51
3.1. Aparatura i odczynniki	51
3.2. Mineralizacja roślinnych surowców leczniczych	57
3.3. Spektrofluometryczne oznaczanie selenu	58
3.4. Przygotowanie roztworów i krzywej wzorcowej dla selenu	59
4. Oznaczanie miedzi, manganu, cynku i żelaza	61
4.1. Aparatura i odczynniki	61
4.2. Mineralizacja roślinnych surowców leczniczych	61
4.1. Parametry oznaczania pierwiastków metalicznych metodą F-AAS	62
4.4. Przygotowanie roztworów i krzywych wzorcowych dla pierwiastków metalicznych	62
4.4.1. Roztwory i krzywa wzorcowa dla miedzi	62
4.4.2. Roztwory i krzywa wzorcowa dla manganu	63
4.4.3. Roztwory i krzywa wzorcowa dla cynku	63

4.4.1. Roztwory i krzywa wzorcowa dla żelaza	64
5. Precyzja i odzysk stosowanych metod	64
WYNIKI I DYSKUSJA	67
1. Charakterystyka analizowanych surowców	68
2. Omówienie wyników oznaczeń selenu	87
3. Omówienie wyników oznaczeń pierwiastków metalicznych	91
3.1. Wyniki oznaczeń miedzi	91
3.2. Wyniki oznaczeń manganu	95
3.3. Wyniki oznaczeń cynku	97
3.4. Wyniki oznaczeń żelaza	100
4. Porównanie zawartości pierwiastków w surowcach pochodzących od tego samego gatunku rośliny	102
5. Zależności pomiędzy oznaczanymi pierwiastkami w analizowanych grupach surowców	105
6. Analiza głównych składowych	106
6.1. PCA ziół	107
6.2. PCA liści	109
6.3. PCA kwiatów	111
6.4. PCA korzeni	113
6.5. PCA owoców i nasion	114
7. Analiza skupień	116
7.1. Analiza skupień dla roślinnych surowców leczniczych	116
7.2. Analiza skupień dla pierwiastków	121
WNIOSKI	124
LITERATURA	127
WYKAZ TABEL	139
WYKAZ RYSUNKÓW	140
STRESZCZENIE	141

WSTĘP

Rok 1817 związany jest z odkryciem selenu przez szwedzkiego chemika J.J. Berzeliusa, który wykrył go w szlamie komór w fabryce produkującej kwas siarkowy z pirytów [Sher, 2001]. Początkowo sądzono, zważywszy na właściwości, że to tellur. Szybko jednak stwierdzono, że chociaż podobny do telluru to ma kilka nowych, unikalnych właściwości [Kabata-Pendias, 1998].

Opisy dotyczące toksyczności selenu przyjmowanego z pokarmem można odnaleźć w notatkach pochodzących z XIII w. [Reid i wsp., 2004]. Marco Polo w czasie podróży znalazł rośliny bogate w selen w górzystym regionie zachodnich Chin, które zjadane przez zwierzęta powodowały u nich odpadanie kopyt. Podobnych obserwacji dokonano w Nebrasce i innych zachodnich obszarach USA w późnym XIX i wczesnym XX w. [Holbein i Smith, 1999]. Rozwój zainteresowań biologiczną rolą tego pierwiastka przypadł na lata pięćdziesiąte, kiedy odkryto, że działanie toksyczne selenu powoduje powstanie dystrofii mięśniowej u zwierząt hodowlanych oraz gdy wykazano, że niedobory selenu oraz witaminy E powodują u szczurów ostrą martwicę wątroby [Foster i Sumar, 1995].

Rok 1973 był znaczący dla zrozumienia biochemicznej roli selenu, odkryto wówczas, że selen jest integralnym składnikiem centrum aktywnego enzymu peroksydazy glutationowej, a 17 lat później dowiedziono, że dejodaza jodotyroniny typu 1 zawiera selenocysteinę w centrum aktywnym. Te przełomowe odkrycia, jak również identyfikacja wielu selenobiałek i selenoenzymów stały się bodźcem napędowym, który zapoczątkował intensywne badania nad fizjologiczną rolą selenu, problemami żywieniowymi związanymi z zapotrzebowaniem na ten pierwiastek, objawami klinicznymi niedoboru lub nadmiaru selenu oraz rolą deficytu selenu w etiologii i przebiegu stanów patologicznych [Holben i Smith, 1999; Zagrodzki, 2000].

W środowisku naturalnym i w materiale biologicznym selen może występować w formie nieorganicznej, tj. jako selen elementarny, selenki metali, seleniany(IV) i (VI), oraz w formie organicznej w bezpośrednich połączeniach C-Se, takich jak związki metylowe, aminokwasy selenowe, selenoproteiny i ich pochodne. Kowalencyjne wiązania C-Se występują w selenocysteinie (SeCys) lub selenometioninie (SeMet). Dotychczas wykryto i opisano jedenaście selenoprotein [Holbein i Smith, 1999]:

- peroksydaza glutationowa komórkowa, klasyczna (odkryta w 1973 r.),
- peroksydaza glutationowa osoczowa, pozakomórkowa (odkryta w 1987 r.),
- peroksydaza glutationowa wodoronadtlenków fosfolipidów,
- peroksydaza glutationowa żołądkowo-jelitowa,

- selenoproteina P i W,
- dejodynaza jodotyroniny typu 1, 2 i 3,
- reduktaza tioiredoksyny (zidentyfikowana w 1996 r.),
- syntetaza selenofosforanowa.

Wykazano, że forma chemiczna w jakiej występuje ten pierwiastek wpływa na biodostępność oraz na dystrybucję selenu w organizmie [Pyrzyńska 2002; Ferri i wsp., 2007]. Selen jest łatwo przyswajany z diety bogatej w białka małowcząsteczkowe oraz w obecności witamin A, E i C, natomiast trudno wchłania się przy wyższych stężeniach metali ciężkich oraz siarki [Kabata-Pendias i Pendias, 1999].

CZĘŚĆ
TEORETYCZNA

I. Właściwości fizykochemiczne selenu

Pierwiastek ten swoją nazwę zawdzięcza greckiej bogini księżyca Selene [Sher, 2004]. Ogólne cechy selenu określa jego położenie w układzie okresowym Mendelejewa, w którym występuje oznaczony symbolem chemicznym Se w grupie VIA, obok tlenu, siarki, telluru i polonu [Bielański, 1981]. Jest to grupa tlenowców. Najważniejsze właściwości fizykochemiczne selenu zestawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Podstawowe właściwości fizykochemiczne selenu [Bielański, 1981].

Właściwości	Wartość liczbową
Konfiguracja elektronowa	$1s^2 2s^2 p^6 3s^2 p^6 d^{10} 4s^2 p^4$
Masa atomowa	78,96
Liczba atomowa	34
Promień atomowy [nm]	0,117
Promień jonowy [nm]	0,198
Elektroujemność [eV]	2,4
Temperatura topnienia [°C]	+217,4 (selen szary)
Temperatura wrzenia [°C]	+685
Stopnie utlenienia	-2, 0, +4, +6
Najważniejsze izotopy	74, 76, 77, 78, 80, 82

Selen jest naturalnym składnikiem skorupy ziemskiej, w której występuje w stężeniu od $5 \cdot 10^{-6}\%$ (Ciba i wsp., 1996) do $1 \div 7 \cdot 10^{-5}\%$ (m/m) [Bielański, 1981; Zachara i wsp., 1983], dlatego też nazywa się go mikroskładnikiem lub pierwiastkiem śladowym. Mimo małej zawartości w skorupie ziemskiej jest on szeroko rozpowszechniony w przyrodzie. Wchodzi w skład wielu rodzajów skał, minerałów i gleb oraz występuje w materiale pochodzenia wulkanicznego i księżycowego [National Academy Press, Selenium in nutrition, 1983]. Spośród minerałów selenu spotykanych w przyrodzie najważniejsze to - berzelianit (Cu_2Se), zaumanit (Ag_2Se) i chalkomenit ($\text{CuSeO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) [Ciba i wsp., 1996]. Stwierdzono, że duża zawartość selenu towarzyszy także złożom siarki i siarczków, lecz jego stosunek do siarki w tych złożach wynosi tylko 1:6000. Ponadto występuje również w węglu, popiele węglowym i pyle [Zawadzka, 1982; Zachara, 1983].

Źródłem zanieczyszczenia środowiska selenem są procesy spalania węgla i produktów przeróbki ropy naftowej, wytopianie rud miedzi i ołowiu, a także działalność przemysłu tłuszczowego, farmaceutycznego, barwników i innych [Nikonorow i Urbanek-Karłowska, 1987].

Selen tworzy trwałe związki na -2, +4 i +6 stopniu utlenienia. Trwałość związków na +4 i +6 stopniu jest zbliżona, natomiast charakterystyczna konfiguracja elektronów walencyjnych $4s^2p^4$ powoduje, że selen ma tendencję do przyjęcia dalszych dwóch elektronów, a więc do przyjęcia konfiguracji najbliższego w układzie okresowym gazu szlachetnego i przejścia na -2 stopień utlenienia [Bielański, 1981].

W temperaturze pokojowej selen nie jest aktywny chemicznie. W wyższych temperaturach reaguje z wieloma metalami i niemetalami, np. z tlenem tworzy tlenki, a z metalami - selenki [Bielański, 1981]. Najważniejsze nieorganiczne związki selenu na poszczególnych stopniach utlenienia zestawiono w Tabeli 2 [Ciba i wsp., 1996].

Tabela 2. Najczęściej spotykane nieorganiczne związki selenu [Ciba i wsp., 1996].

Stopień utlenienia	Nieorganiczne związki selenu
Se^{-2}	H_2Se
Se^0	selen szary
Se^{+1}	Se_2Cl_2 , Se_2Br_2
Se^{+4}	SeO_2 , H_2SeO_3 , SeOF_2 , SeOCl_2 , SeOBr_2 , SeF_4 , SeCl_4 , SeBr_4 , SeBr_6^{2-}
Se^{+6}	SeO_3 , H_2SeO_4 , SeO_2F_2 , SeO_2Cl_2 , SeF_6

Obok związków selenu znane są także jego odmiany alotropowe. W stanie wolnym selen tworzy pięć odmian alotropowych - dwie bezpostaciowe i trzy krystaliczne. Może tworzyć ośmioatomowe cząsteczki pierścieniowe (Se_8) oraz cząsteczki łańcuchowe o znacznej długości. Cząsteczki pierścieniowe Se_8 występują w postaci dwóch nietrwałych odmian krystalicznych - selenu α i selenu β . Obydwie odmiany mają barwę czerwoną. Cząsteczki łańcuchowe występują w stopie selenu. W wyniku nagłego ostudzenia stopionego selenu uzyskuje się selen bezpostaciowy, tzw. selen szklisty. Cząsteczki łańcuchowe występują także w najtrwalszej odmianie selenu - w selenie szarym, zwanym niekiedy ze względu na swój wygląd selenem metalicznym. W stanie gazowym selen występuje w formie cząsteczek dwuatomowych (Se_2) o barwie żółtej [Bielański, 1981].

Selen tworzy 26 odmian izotopowych. Zakres wartości ich liczby masowej mieści się w przedziale 69 - 89. Najważniejsze z nich to izotopy o liczbach masowych 74 - 82. W większości są one trwałe, z wyjątkiem ^{75}Se , izotopu promieniotwórczego, który jako jedyny emituje promieniowania β i γ . Zawartość izotopów selenu w przyrodzie jest bardzo zróżnicowana, najbardziej rozpowszechniony jest ^{80}Se , a najmniej ^{74}Se [Ciba i wsp., 1996].

Organiczne związki selenu stanowią podstawową część naturalnego cyklu przemian tego pierwiastka i są najbardziej dostępną formą selenu dla człowieka. Rolę tę pełnią najczęściej aminokwasy selenowe - selenometionina, którą wyodrębniono z roślin oraz selenocysteina, wyodrębniona z organizmów zwierzęcych. Z kolei lotne metyloselenki, tworzące się z nieorganicznych związków selenu przy udziale bakterii, odgrywają istotną rolę w wydalaniu selenu z organizmu człowieka [Pyrzyńska, 1996]. Najważniejsze organiczne połączenia selenu występujące w organizmach żywych zestawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Organiczne połączenia selenu występujące w organizmach żywych [Pyrzyńska, 1996].

Organiczne związki selenu	Wzór chemiczny
Selenocysteina	$\text{H-Se-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Metyloselenocysteina	$\text{CH}_3\text{-Se-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Selenometionina	$\text{CH}_3\text{-Se-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Metyloselenometionina	$(\text{CH}_3)_2\text{Se}^+\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Selenocystyna	$\text{HOOC-CH(NH}_2\text{)-CH}_2\text{-Se-Se-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$
Selenomocznik	$\text{Se=C(NH}_2\text{)}_2$
Seleniocholina	$(\text{CH}_3)_2\text{Se}^+\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$
Selenobetaina	$(\text{CH}_3)_2\text{Se}^+\text{-CH}_2\text{-COOH}$
Dimetyloselenek	$\text{CH}_3\text{-Se-CH}_3$
Dimetylodiselenek	$\text{CH}_3\text{-Se-Se-CH}_3$

II. Obieg selenu w środowisku naturalnym człowieka

Selen jest szeroko rozpowszechniony w hydrosferze, litosferze, atmosferze oraz biosferze Ziemi [Tamari, 1998]. Tak jak inne pierwiastki krąży nieustannie w przyrodzie, osiągając bardzo zróżnicowane zakresy stężeń oraz rozmieszczenie w poszczególnych partiach środowiska naturalnego [Umińska, 1990; Masłowska i Janiak, 1991].

Obieg selenu w przyrodzie rozpoczyna się od wietrzenia skał pochodzenia wulkanicznego, skąd zawarty w nich pierwiastek przenoszony jest do atmosfery, a z niej do oceanów, mórz i jezior. Częściowo pobierany jest również przez rośliny. Do wód płynących i podziemnych selen dostaje się także bezpośrednio z wietrzejących skał, a w wyniku procesów glebotwórczych również do gleb. Ze środowiska glebowego pobierany jest przez rośliny i za ich pośrednictwem, wraz z roślinnymi składnikami pożywienia, trafia do organizmu człowieka. Może też wraz z roślinami pastewnymi być pobrany przez organizmy zwierząt, skąd za pośrednictwem produktów spożywczych pochodzenia zwierzęcego trafia również do człowieka. Ilość selenu pobrana w ten sposób przez człowieka uzupełniana jest przez spożywanie flory i fauny wodnej oraz drogą oddechową z powietrza atmosferycznego. Selen wraca do gleby poprzez obumarłe rośliny oraz wydaliny zwierząt i ludzi, część natomiast, w formie lotnych związków, przekazywana jest bezpośrednio z roślin do powietrza atmosferycznego [Umińska, 1990].

III. Rola selenu w organizmie człowieka

Selen jest istotnym i niezbędnym do życia biopierwiastkiem znajdującym się w organizmie człowieka w śladowych ilościach. Jego obecność warunkuje prawidłowy przebieg wielu procesów fizjologicznych i biochemicznych.

Największe ilości selenu zlokalizowane są w tarczycy, wątrobie, warstwie korowej nerki, trzustce i przysadce mózgowej. We krwi człowieka jest absorbowany przez eryocyty i transportowany do tkanek przez selenowiązące białka. Czas półtrwania selenu w organizmie człowieka to około 65 - 115 dni. Usuwany jest z organizmu wraz z moczem (60%), kałem (30%), z wydychanym powietrzem, potem i śliną. [Mestek i wsp., 1997; Sher, 2001].

1. Rozmieszczenie selenu w organizmie człowieka

Poziom selenu w organizmie człowieka jest stale kontrolowany przez metabolizm, a różnice w zawartości mikroelementu u poszczególnych populacji ludzkich wynikają m.in. ze zwyczajów żywieniowych [Woźniak, 1997; Sager, 1994]

Wszystkie związki selenu dobrze wchłaniają się z przewodu pokarmowego (ponad 60 %) i z układu oddechowego. Niektóre związki, jak np. chlorek selenylu, dobrze wchłaniają się przez skórę. Selen jest łatwiej absorbowany z połączeń z aminokwasów niż z formy nieorganicznej [Seńczuk, 1994].

Selen wchłonięty do organizmu początkowo wiązany jest przez krwinki czerwone oraz albuminy i globuliny osocza, a następnie transportowany jest do tkanek. Nieorganiczne związki selenu przekształcają się w organiczne selenokompleksy w mięśniach, hemoglobinie i osoczu. Seleniany(VI) w wątrobie, śledzionie, krwi i osoczu redukowane są przez enzymy do selenianów(IV) lub selenu. Seleniany(IV) mogą tworzyć kompleksy z białkami, wykazując więc większe powinowactwo do tkanek niż seleniany(VI) i mogą być szybciej przyłączone do enzymu glutationu peroksydazy. Selenian(IV) przenika przez barierę krew - łożysko i przedostaje się do płodu [Seńczuk, 1994].

Zawartość selenu w tkankach i płynach biologicznych jest zazwyczaj niska, wyższy poziom pierwiastka obserwuje się u ludzi spożywających ryby i mięso wieprzowe (Sager, 1993; Niesiobędzka i Czauderna, 1996). Erytrocyty zawierają więcej selenu niż cała krew ogółem [Sager, 1993]. Stosunek zawartości selenu w krwinkach czerwonych do jego zawartości w osoczu wynosi 3:1. Z największą wydajnością odkłada się w wątrobie i nerkach oraz we włosach i paznokciach [Seńczuk, 1994].

Poziom selenu w surowicy krwi zależy także od wieku człowieka. Najniższe stężenie selenu występuje u noworodków. Osiąga ono minimum w pierwszej połowie roku po urodzeniu, a maksimum w wieku dorosłym. U ludzi starszych, powyżej 60 roku życia, zawartość selenu obniża się stopniowo [Tamari i Kim, 1999]. Zawartość selenu w osoczu krwi mieszkańców Polski jest niska i wynosi około 50 - 55 $\mu\text{g/l}$ [Wasowicz i wsp., 2003].

Analiza zawartości selenu w ludzkich włosach nie dostarcza wiarygodnych informacji o jego stężeniu w organizmie. Przyczyną tego jest zwiększanie się poziomu selenu we włosach w wyniku używania szamponów zawierających związki tego pierwiastka [Sager, 1993].

2. Przemiany metaboliczne selenu

Związki selenu są metabolizowane w organizmie dwiema najważniejszymi drogami. Pierwsza to redukcja selenu połączona z jego metylacją. Zaczynając od związków na +6 stopniu utlenienia, seleniany(VI) są redukowane do selenianów(IV) i/lub dalej do selenków. Seleniany(VI) mogą także ulegać enzymatycznej aktywacji z udziałem ATP do adenosyno-5'-selenofosforanu, który z kolei redukuje się do selenianu(IV) w obecności glutationu [Fishbein, 1991].

Nie zmetylowane formy selenu są przekształcane do postaci mono-, di- i trimetylowych. Jon trimetyloselenowy (TMeSe^+) jest wydalany z moczem i stanowi on

metabolit, w którym selen odznacza się niską biologiczną aktywnością, zarówno odżywczą jak i toksyczną. Dimetylowa forma selenu (DMeSe) jest z kolei metabolitem pośrednim, wydzielanym drogą oddechową, ale tylko wtedy, gdy szybkość jej tworzenia przewyższa szybkość dalszej metylacji do jonu TMeSe⁺. Forma monometylowa selenu (MMeSe) jest zazwyczaj wydalana na drodze metabolizmu selenometioniny. Przemiany metaboliczne zachodzące na tej drodze mogą mieć następujący przebieg [Fishbein, 1991]:



Procesy biometylacji zmierzają w kierunku odtrucia organizmu, ponieważ DMeSe i TMeSe⁺ są mniej toksyczne w porównaniu z pozostałymi związkami selenu [Seńczuk, 1994; Pyrzyńska, 1996].

Metabolizm selenoglutationu polega natomiast na dwustopniowej redukcji selenu do selenowodoru w wątrobie i erytrocytach przy udziale reduktazy glutationu. H₂Se jest następnie metylowany i wydalany z moczem [Fishbein, 1991; Foster i Sumar, 1997].

Druga droga metabolizmu związków selenu w organizmie to bezpośrednie wbudowanie lub związanie selenu przez białka, w których zastępuje siarkę podstawiając ją głównie w aminokwasach - cysteinie i metioninie. L-Selenometionina jest formą selenu najlepiej przyswajalną przez organizm, jest ona lepiej absorbowana i wbudowywana do białek niż jakakolwiek inna postać tego pierwiastka. D-Selenometionina jest 5-krotnie słabiej przyswajana niż L-selenometionina i jest rozkładana do nieorganicznego selenu [Fishbein, 1991].

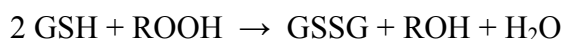
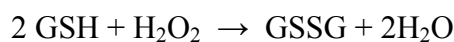
Wydalenie selenu z organizmu następuje z moczem w postaci jonu TMeSe⁺. Z kałem wydalenie jest dwukrotnie mniejsze. Selen wydala się także z potem i w postaci DMeSe o zapachu czosnku z powietrzem wydychanym [Seńczuk, 1994].

3. Selen w związkach biologicznie czynnych

Największe znaczenie biologiczne selenu wiąże się z jego występowaniem w enzymach i białkach. Zidentyfikowano i scharakteryzowano kilka selenozależnych enzymów, w których selen umieszczony jest w katalitycznym miejscu jako reszta selenocysteinowa. Najlepiej poznane selenoenzymy występujące u ssaków to: peroksydaza glutationowa, selenoproteina P oraz 5-dejodynaza tetrajodotyroniny. Z wyjątkiem 5-dejodynazy tetrajodotyroniny, wszystkie enzymy katalizują reakcje redoks [Lauchli, 1993].

3.1. Peroksydaza glutationowa

Jednym z kluczowych pierwiastków peroksydazy glutationowej (GPO, GSH-Px, oksydoreduktaza) jest selen [Campbell, 2001]. Enzym ten składa się z 4 podjednostek, z których każda zawiera jeden atom selenu w postaci selenocysteiny [Graczyk i wsp., 1994]. Głównym zadaniem peroksydazy glutationowej jest usuwanie toksycznych dla tkanek nadtlenków organicznych i nadtlenku wodoru poprzez redukcję do związków hydroksylowych – wody lub alkoholu. Jako reduktor służy rozpowszechniony w organizmie glutation [Holbein i Smith, 1999]. Eliminując nadtlenek wodoru enzym ten chroni przed utlenieniem błony komórkowe, hemoglobinę i kwasy tłuszczowe [Graczyk i wsp., 1994].



GSH – glutation zredukowany

GSSG – glutation utleniony

Peroksydaza glutationowa wraz z dysmutazą nadtlenkową oraz niskocząsteczkowymi połączeniami pierwiastków śladowych wchodzi w skład systemu antywołnorodnikowego. Wolne rodniki jako związki o dużej reaktywności chemicznej są zdolne do indukowania procesów uszkadzających komórki, mogą powodować pęknięcie nici i defekty DNA. Uszkodzenia tkanek przez wolne rodniki są przyczyną m.in. nowotworów, miażdżycy, stanów zapalnych [Łozak, 1996].

Pomimo tego, że aktualne opinie co do roli peroksydazy glutationowej są podzielone, udział selenu w systemie antyoksydacyjnym organizmu człowieka nie budzi wątpliwości. Odkryte ostatnio dwie selenoproteiny nie są jeszcze dostatecznie poznane jako elementy tego systemu. Jedną z nich jest selenoproteina wątrobowa, uczestnicząca w naprawianiu uszkodzeń wywołanych wolnymi rodnikami, a druga – selenoproteina surowicy krwi, przypuszczalnie pełni funkcje transportowe [Holbein i Smith, 1999].

3.2. 5-Dejodynaza tetrajodotyroniny

Ludzki gruczoł tarczycowy zawiera największą ilość selenu w jednostce masy gruczołu spośród wszystkich organów. Pierwiastek ten jest niezbędny do właściwej syntezy, aktywacji i metabolizmu hormonów tarczycowych [Sher, 2001].

Selen jest składnikiem 5-dejodynazy tetrajodotyroniny, enzymu katalizującego dejodację tyroksyny (T_4) do jej aktywnej formy 3,3',5-trijodotyroniny (T_3) lub do nieaktywnego izomeru rT_3 . Dejodacja ma miejsce w tkankach obwodowych, głównie w wątrobie, nerkach i mięśniach szkieletowych. Przekształcenie to może ulegać zaburzeniom podczas niedoboru selenu w ustroju. To wskazuje, że nie tylko jod, ale również selen jest potrzebny do prawidłowego metabolizmu hormonów tarczycy i niedobór tego pierwiastka należy brać pod uwagę w diagnostyce chorób tarczycy [Floriańczyk, 1996; Holbein i Smith, 1999; Sher, 2001].

3.3. Synergizm z witaminą E

Aktualnie wszystkie badania dotyczące selenu obejmują także elementy ściśle z nim związane w procesach metabolicznych. Chodzi tutaj o witaminę E oraz aminokwasy zawierające siarkę – metioninę i cystynę. Powiązanie z witaminą E jest wyjątkowo ważne. Wykazano, że obecność jednego z tych elementów w produktach spożywczych zastępuje brak drugiego. Niemniej jednak w wyniku licznych doświadczeń na zwierzętach wykazano, że selen nie może być całkowicie zastąpiony witaminą E [Edney i wsp., 1998].

Tokoferol jest partnerem selenu w procesie ochrony narządów organizmu przed szkodliwym wpływem wolnych rodników, a łączne działanie obu czynników daje najlepsze efekty. Wspólnie chronią błony mitochondrii, mikrosomów i cytochromów przed utlenianiem tłuszczów i zapewniają normalny wzrost i płodność [Wiackowski, 1995].

4. Udział selenu w mechanizmach obronnych organizmu człowieka

W badaniach na zwierzętach wykazano, że łączne podanie witaminy E i selenu wywiera działanie immunostymulujące. Pierwiastek ten jest niezbędny do prawidłowego przebiegu zarówno komórkowej, jak i humoralnej odpowiedzi immunologicznej [Nakane, 1992]. Selen wzmacnia aktywność makrofagów, produkcję immunoglobulin oraz cytolityczną siłę tzw. komórek – killerów (zabójców) [Woźniak, 1997]. Natomiast deficyt tego pierwiastka w organizmach wyższych może powodować działanie immunosupresyjne. Manifestuje się ono osłabieniem właściwości bakteriocydowych leukocytów [Furowicz i wsp., 1993a].

Związki selenu mogą hamować również infekcje wirusowe. Selenocystyna jest inhibitorem enzymów transkryptazy RNA i replikazy RNA, wytwarzanych w komórce

zakazonej wirusem grypy, a być może także innymi wirusami tejże grupy [Furowicz i wsp., 1993b].

4.1. Selen jako antykancerogen

Selen jako przeciwutleniacz ogranicza szkodliwe procesy peroksydacji lipidów, DNA i RNA, a więc chroni komórki przed deformacją i uszkodzeniami genetycznymi [Seńczuk, 1994; Wiąckowski, 1995]. Selen wchodzi w skład peroksydazy glutationu (GSH-Px), działającej jako czynnik antyoksydacyjny zaliczany do grupy tzw. zmiataczy wolnych rodników. Lokalizując się w miejscu aktywnym tego enzymu, który odpowiedzialny jest m.in. za usuwanie z organizmu nadtlenu wodoru oraz nadtlenków organicznych tworzących się w procesie peroksydacji lipidów, selen spełnia rolę ochronną dla krwinek czerwonych, a w szczególności dla hemoglobiny.

Wykazano także, że stężenie selenu koreluje ujemnie ze stężeniem aterogennej frakcji lipidów osocza (LDL), zawierającej zmodyfikowane oksydacyjnie kwasy tłuszczowe. Rola selenozależnej GSH-Px obejmuje ochronę frakcji LDL przed jej utlenieniem i przekształceniem we frakcję aterogenną [Jarzabek i Naskalski, 1992].

Antyoksydacyjne właściwości selenu i peroksydazy glutationu oraz ich protekcyjną rolę w stosunku do DNA wykorzystuje się w terapii przeciwnowotworowej [Floriańczyk, 1996]. Selen neutralizuje działanie aflatoksyn, które znane są z rakotwórczego i teratogenego wpływu na organizm, zapobiegając procesom proliferacji i wzrostu komórek nowotworowych [Masłowska i Gawłowska, 1999; Floriańczyk, 1996; Furowicz i wsp., 1993a].

Studia epidemiologiczne wykazały, że ryzyko zachorowania na choroby nowotworowe może zależeć od stężenia selenu we krwi. Osoby, u których stwierdzono niski poziom selenu stanowią grupę podwyższonego ryzyka, szczególnie, gdy temu poziomowi selenu towarzyszy również niska zawartość witaminy E. Wskazano też, że krew osób zdrowych zawiera o kilkanaście procent więcej selenu niż krew osób chorych na choroby nowotworowe [Rajca, 1990].

Selen jest jednym z antykancerogenów w całej grupie substancji niezbędnych do kontroli procesu tworzenia substancji wolnorodnikowych w organizmie. Substratami niezbędnymi do wiązania wolnych rodników są także α -tokoferol (witamina E) i β -karoten (prowitamina A). Wydaje się, że w organizmie wszystkie te substancje tworzą razem pewien potencjał oksydoredukcyjny, zdolny do ochrony wrażliwych struktur organizmu ludzkiego przed szkodliwym wpływem wolnych rodników. Jest też bardzo prawdopodobne, że selen

poprzez reduktazę glutationu, a także poprzez inne mało jeszcze poznane selenoproteiny, koordynuje działanie pozostałych tzw. zmiataczy wolnych rodników i stąd posiada kluczowe znaczenie dla całego systemu ochrony organizmu przed wolnymi rodnikami [Jarząbek i Naskalski, 1992].

Dodatek selenu, zarówno w postaci nieorganicznej (Na_2SeO_3 , SeO_2 , Na_2SeO_4), jak i organicznej (selenometionina, selenocysteina, selenoglutation, selenocyjanian benzylu, i in.), wprowadzany do organizmu z wodą pitną lub pokarmem powoduje istotną – czasem o ponad 50% – redukcję indukowanych chemicznie nowotworów [Rajca, 1990].

Efekt ochronny selenu występuje dopiero przy przekroczeniu ilości progowej pierwiastka w pożywieniu, tj. przy zawartości około 2 – 3 ppm, co odpowiada dawce co najmniej 250 – 300 μg Se/dobę. Istotny jest fakt, że efekt ochronny występuje w organach stanowiących główne miejsca występowania nowotworów u ludzi, tj. w żołądku, gruczole piersiowym, okrężnicy, przełyku, wątrobie i w skórze [Rajca, 1990].

Kluczowa rola selenu jako pierwiastka współtworzącego centrum aktywne peroksydazy glutationowej tłumaczy jedynie część aktualnie znanych faktów doświadczalnych dotyczących antykancerogenego działania selenu. Dyskutowane są również inne możliwe mechanizmy oddziaływania selenu, takie jak [Rajca, 1990]:

- ✓ powodowanie zmian w metabolizmie kancerogenów,
- ✓ zmiany w sposobie oddziaływania kancerogenów z DNA,
- ✓ wzmoczenie mechanizmów detoksyfikacyjnych,
- ✓ podniesienie poziomu glutationu,
- ✓ modyfikacja przepuszczalności błon komórkowych,
- ✓ selektywne hamowanie gospodarki energetycznej komórek nowotworowych,
- ✓ stymulacja układu immunologicznego organizmów.

Wszystkie te dane świadczą o tym, że w wielu modelach eksperymentalnych selen jest skutecznym antykancerogenem i może być brany pod uwagę jako element profilaktyki przeciwnowotworowej u ludzi.

4.2. Detoksyfikacyjna rola selenu

Selen oprócz określonych czynności fizjologicznych może pełnić korzystną rolę w ograniczaniu toksycznego działania ksenobiotyków, w tym metali ciężkich. Można wyodrębnić następujące rodzaje oddziaływań [Grosicki, 1999]:

- wpływ na metabolizm metali ciężkich w organizmie,
- modulowanie wtórnych efektów toksycznych powstałych w wyniku zatrucia metalami ciężkimi.

W organizmach ludzkich i zwierzęcych łatwo powstają selenki kadmu, rtęci, ołowiu, srebra i talu, które charakteryzują się niską rozpuszczalnością i w związku z tym zostają wyłączone z procesów biochemicznych i wydalone z organizmu. W efekcie tych reakcji selen może unieruchamiać toksycznie działający nadmiar metali, które odkładają się głównie w organach mięsowych [Kabata-Pendias i Pendias 1999; Bryszewska i Pęczkowska, 1998; Ferri i wsp., 2007].

W przypadku ostrego zatrucia kadmem równoczesne lub poprzedzające zatrucie podanie selenu ogranicza zmiany martwicze w jądrach, a także i w płodach zwierząt doświadczalnych. Wykazano, że selen podawany z wodą pitną może skutecznie przeciwdziałać wzrostowi ciśnienia krwi u zwierząt zatrutowanych kadmem. Badania na zwierzętach eksponowanych na rtęć wykazały, że umiarkowanie zwiększone ilości selenu zapobiegają zmianom martwiczym w nerkach oraz zmniejszają śmiertelność przy jednoczesnej redystrybucji rtęci z nerek do innych narządów [Grosicki, 1999].

Mechanizm ochronnego działania selenu polega także na łączeniu się tego pierwiastka z cięższymi białkami osocza i tkanek, co umożliwia tak powstałym kompleksom wyjątkowo skuteczne przyłączanie kadmu i rtęci nawet wówczas, gdy metale te są związane z metalotioneiną. Kompleksy białkowe z selenem zawierają stechiometryczne ilości tych pierwiastków i blokują udział związanych metali w reakcjach biologicznych [Grosicki, 1999].

4.3. Pozostałe aspekty działania selenu

Selen jest pierwiastkiem młodości, gdyż przyczynia się do zwiększenia elastyczności tkanek, opóźnia ich starzenie się oraz łagodzi dolegliwości menopauzalne [Wiackowski, 1995].

Selen bierze udział w metabolizmie mięśni. Brak tego pierwiastka, zwłaszcza przy niedoborze witaminy E, wywołuje dystrofię mięśni [Furowicz i wsp., 1993a]. Pierwiastek ten ma działanie grzybobójcze [Wiackowski, 1995]. Siarczek selenu jest skutecznym lekiem stosowanym w terapii skórnych grzybic ludzi i zwierząt [Kobayashi i Medoff, 1986].

IV. Konsekwencje niedoboru selenu w organizmie człowieka

Niedobór selenu w organizmach żywych jest konsekwencją coraz większego zubożenia środowiska naturalnego w ten pierwiastek wskutek stosowania nowoczesnych technologii w rolnictwie i przemyśle spożywczym. Zmniejszona podaż wynika z pogłębiającej się erozji gleb, zakwaszania związkami siarki i azotu („kwaśne deszcze”) oraz skażenia metalami ciężkimi. Procesy te tłumaczą zjawisko hamowania przyswajalności selenu przez rośliny. Ograniczony transport selenu wzdłuż łańcucha pokarmowego, od gleby poprzez rośliny i zwierzęta do człowieka, objawia się coraz mniejszą jego zawartością w produktach spożywczych [Smorkolj i wsp., 2005].

Na upośledzenie biodostępności selenu w diecie wpływają dodatkowo procesy głębokiego przetwarzania żywności, a interakcje tego pierwiastka z metalami ciężkimi (kadm, ołowiem) prowadzą do przekształceń selenu znajdującego się w naturalnych związkach organicznych w nieprzyswajalne selenki. Tym niekorzystnym przekształceniom wtóruje działanie niektórych bakterii podczas przechowywania żywności [Woźniak, 1997].

Należy również uwzględnić wzrost zapotrzebowania na selen u człowieka żyjącego w stresogennych warunkach, w narastającym zatruciu tlenkami azotu i siarki, gazami spalinowymi, substancjami rakotwórczymi, nikotyną i alkoholem. System obronny człowieka zmuszony do coraz intensywniejszej pracy, nie może obejść się bez dodatkowych dawek selenu.

Deficyt selenu jest problemem dotyczącym zwierzęta domowe, dzikie gatunki pasących się przeżuwaczy, jak również ludzi w Chinach, Nepalu, Australii i Centralnej Afryki [Pazzarossa i wsp., 2007]. Niedobór selenu u ludzi grozi zwyrodnieniem wielu narządów i tkanek. Najbardziej znaną chorobą spowodowaną brakiem tego pierwiastka jest choroba Keshan – kardiomiopatia młodzieńcza – endemiczna choroba mięśnia sercowego [Umińska, 1990; Marzec, 1994; Hordyjewska i Pasternak, 2004]. Po raz pierwszy stwierdzono jej przypadki w 1935 r., w prowincji Keshan w północno-wschodnich Chinach, gdzie występują gleby ekstremalnie ubogie w selen. Występuje ona głównie u dzieci i młodych kobiet [Fryer, 2002]. Pierwotne zmiany patologiczne charakteryzują się licznymi ogniskami martwiczymi z różnym stopniem zwłóknienia. Choroba atakuje mięsień sercowy, w mniejszym stopniu mięśnie prądkowane [Umińska, 1990].

Drugą chorobą występującą u ludzi związaną z niedoborem selenu w środowisku naturalnym jest Kasin-Beck. Jest to endemiczna choroba układu kostno-stawowego,

powodująca zaburzenia w kostnieniu oraz deformację stawów. W Chinach tereny występowania chorób Keshan i Kasin-Beck pokrywają się [Umińska, 1990].

Są również dowody wskazujące, że deficyt selenu występuje w chorobie Friedreicha (FRDA), tzn. dziedzicznej atazji (beźładzie) rdzeniowej [Fryer, 2002].

Badania przeprowadzone w ostatnich latach wykazały związek między niedoborem selenu w organizmie, a obniżeniem aktywności enzymów odpowiedzialnych za czynności błon komórkowych, osłabienie odporności i powstawanie nowotworów [Furowicz i wsp., 1993a].

Brak selenu prowadzi ponadto do martwicy wątroby i trzustki, zmniejszenia płodności [Masłowska i Janiak, 1991] i dystrofii [Woźniak, 1997].

Wykazano także, że niski poziom selenu w organizmie człowieka jest związany ze znacząco zwiększającą się liczbą przypadków depresji, lęków, niepokoju, zakłopotania i wrogości. Udowodniono także, że poziom selenu w mózgu w przypadku choroby Alzheimera stanowi tylko 60% poziomu kontrolnego [Sher, 2001].

V. Zalecane dawki selenu

Zawartość selenu w organizmie człowieka jest szacowana na podstawie analizy stężenia tego pierwiastka w materiale biologicznym lub na podstawie pomiaru selenozależnych funkcji biochemicznych lub klinicznych, np. pomiar aktywności selenoenzymu – peroksydazy glutationowej. Jednak najbardziej popularną techniką określenia ilości selenu w organizmie ludzkim jest oznaczanie jego stężenia w osoczu krwi. Należy pamiętać, że fizjologiczne zapotrzebowanie człowieka na ten pierwiastek nie jest dokładnie poznane [Neve, 1991].

W 1980 r. National Research Council of the US Academy of Science opublikował oszacowane dobowe przyjmowanie selenu przez ludzi dorosłych rzędu 50 – 200 μg [US National Academy of Science, 1980].

Obliczono, że północno-amerykańscy mężczyźni potrzebują 80 μg selenu na dobę, podczas gdy kobiety tylko 57 μg . Podano także fizjologiczne wymagania odnośnie zapotrzebowania na selen przez kobietę ważącą 62 kg i mężczyznę ważącego 79 kg, odpowiednio 55 i 70 μg na dobę [Levander i Morris, 1984].

W 1989 r. Food and Nutrition Board of the US National Research Council opublikował rekomendowaną dobową dawkę (RDA – Recommended Dietary Allowances), odpowiednio 55 i 70 μg dla kobiet i mężczyzn [National Academy Press, 1989].

Próbowano także oszacować maksymalną bezpieczną dawkę spożycia selenu na dobę. Poszczególni autorzy podają różne wartości: 350 µg, 500 µg, 750 – 850 µg [Neve, 1991].

W Raporcie Grupy Ekspertów WHO/FAO/IAEA z 1996 r. określono podstawowe (minimalne) zapotrzebowanie selenu niezbędne dla uniknięcia klinicznych objawów choroby Keshan, wynoszące dla mężczyzn 21 µg Se/dobę, a dla kobiet 16 µg Se/dobę. Ponadto zdefiniowano niezbędną ilość selenu konieczną dla uzyskania 2/3 maksymalnej wartości aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu, dla mężczyzn 40 µg Se/dobę i kobiet 30 µg Se/dobę. Według tego raportu ekstrapolowane wartości dla niemowląt (0 – 3 miesiące) wynoszą 3 µg/dobę (zapotrzebowanie podstawowe) i 6 µg/dobę (zapotrzebowanie prawidłowe). U kobiet w okresie ciąży zapotrzebowanie podstawowe na selen wynosi 18 µg/dobę, zapotrzebowanie prawidłowe jest równe 39 µg/dobę. W rocznym okresie laktacji zapotrzebowanie podstawowe selenu wzrasta do 21 µg/dobę, a prawidłowe od 42 µg/dobę do 52 µg/dobę [WHO, 1996].

Zwykle pacjentom podaje się dawkę w zakresie 20 – 125 µg Se/dobę, niekiedy w granicach 200 – 300 µg Se/dobę, a pacjentom żywionym pozajelitowo 200 – 900 µg Se/dobę [Zagrodzki, 2000b].

VI. Selen w pożywieniu

Selen pobierany jest przez ludzi głównie drogą pokarmową. Podstawowym źródłem tego pierwiastka są produkty pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Selen w formie nieorganicznej, czyli selenianów(IV) lub (VI), jest wchłaniany przez rośliny z gleby, następnie przekształcany do form organicznych, głównie do selenometioniny oraz selenocysteiny. Ta druga forma dominuje w produktach pochodzenia zwierzęcego. W tej postaci selen jest spożywany przez ludzi. W organizmie człowieka ulega on przemianom, w trakcie których jest przyłączany do białek i aminokwasów [Albert i wsp., 1995; Pazzarossa i wsp., 2007]. Stwierdzono, że selen organiczny wbudowany w drożdże jest bardziej biodostępny i mniej toksyczny dla ludzi niż jego formy nieorganiczne [Grabowska-Bochenek i wsp., 2000].

Poziom selenu w produktach żywnościowych jest zależny od jego zawartości w glebie, rodzaju gleby, warunków agroklimatycznych i rodzaju upraw, tak więc zawartość selenu w glebie i roślinach, a co za tym idzie we krwi ludzi, jest zróżnicowana i zależna od regionu geograficznego [Kadrabova i wsp., 1997].

Bogatym źródłem selenu jest sól morską i kopalnianą, podroby, jaja, pieczywo i produkty piekarnicze, mięso i jego przetwory, drożdże, grzyby, czosnek, pomidory, szparagi, orzechy, kalarepa i inne [Gawłowska i Masłowska, 2001]. Ogólnie, produkty zbożowe pokrywają 50% zapotrzebowania na selen, a mięso, drób i ryby ok. 35%. Pierwiastek ten dostarczany jest do organizmu także z wodą i napojami w ilości 5 – 25% [Wang i wsp., 1994a]. Udział owoców w dobowym dostarczaniu selenu jest niewielki – dostarczają one poniżej 10% tego pierwiastka [Zagrodzki, 2000a].

Należy wspomnieć, że gotowanie i smażenie potraw, a także wypiek chleba może powodować straty w skutek tworzenia i wydzielania się lotnych związków selenu. Straty te mogą dochodzić do kilkudziesięciu procent. Przemysłowe mielenie ziaren zbóż obniża zawartość tego pierwiastka o 10 – 30% [Zagrodzki, 2000a]. Biodostępność selenu z żywności zależy od jego formy chemicznej i innych dietetycznych czynników, jak zawartość białka, tłuszczu i metali ciężkich [Kadrabova i wsp., 1997; Pappa i wsp., 2006].

Przyswajalność selenu jest zwiększona w diecie bogatej w białka małowęzrostkowe zawierające metioninę oraz w witaminy (głównie A, E, C), a utrudniona przy podwyższonej ilości metali ciężkich i siarki [Woźniak, 1997; Kabata-Pendias i Pendias, 1999].

1. Produkty spożywcze pochodzenia roślinnego

Ilość selenu w organizmie człowieka zmienia się w zależności od obszaru geograficznego, wskutek zmian zawartości tego mikroelementu w glebie, i w konsekwencji w łańcuchu pokarmowym poprzez rośliny i zwierzęta do ludzi. Selen wchodzi do łańcucha pokarmowego przez rośliny, które pobierają go z gleby [Kadrabova i wsp., 1997; Rayman, 2000; Smrkołj i wsp., 2000; Pappa i wsp., 2006].

Owoce i warzywa charakteryzują się niską zawartością selenu. Wyjątkiem są rośliny strączkowe, takie jak groch, soczewica, fasola. Pierwiastek ten występuje głównie w białkowej frakcji żywności, dlatego też rośliny z małą zawartością białka są ubogim źródłem tego pierwiastka. Większe ilości selenu zawiera również czosnek [Kadrabova i wsp., 1997; Elless i wsp., 2000]. Warzywa pod warunkiem, że są spożywane świeże i z pominięciem procesów obróbki kulinarnej narażającej na straty selenu, mogą dostarczać około 11% dziennego zapotrzebowania na ten mikroelementu [Smrkołj i Stibilj, 2004]. W Tabeli 4 zestawiono dane na temat zawartości selenu w wybranych roślinnych produktach spożywczych pochodzących z różnych krajów.

Zawartość selenu w roślinach uprawnych jest zwykle na poziomie poniżej 1 $\mu\text{g/g}$ s.m. (III grupa roślin, nie-akumulatory selenu), i dlatego te rośliny mogą być uważane za bezpieczne dla ludzi i zwierząt nawet, jeżeli rosły na obszarach średnio zasobnych w ten pierwiastek. U roślin uprawnych ilość selenu w pędach zależy w dużym stopniu od rodzaju dostępnego jonu selenu. Stwierdzono, że w wielu surowcach roślinnych stężenie tego pierwiastka w pędach jest większe jeżeli selenian(VI), a nie selenian(IV), jest dostarczany do korzeni [Lauchli, 1993; Pazzarossa i wsp., 2007]. Selen przyjmowany przez rośliny w formie selenianów(IV) i (VI) jest przekształcany do selenometioniny, która jest wbudowywana do białek w miejsce metioniny i może stanowić ponad 50% całego selenu w roślinie [Pazzarossa i wsp., 2007]. Selenometionina jest dominującą formą występowania tego mikroelementu w nasionach zbóż [Kadrabova i wsp., 1997]. Liście i owoce zwykle zawierają większe ilości selenu niż korzenie i łodygi [Sager, 1993].

Na obszarach z niską naturalną zawartością selenu w glebie zalecany jest dodatek selenianu(VI) sodu do gleby w celu zmniejszenia deficytu tego pierwiastka [Kos i wsp., 1998]. W Finlandii zwiększono zawartość selenu w łańcuchu pokarmowym poprzez dodanie tego mikroelementu w formie selenianu(VI) do nawozów [Pappa i wsp., 2006; Kadrabova i wsp., 1997].

Obecnie testuje się możliwość wzbogacenia roślin jadalnych w pierwiastki w celu określenia, czy mogą stać się one źródłem ich biodostępnych form [Elless i wsp., 2000]. Rośliny są ubogim źródłem selenu, ale są zdolne do akumulacji większych ilości tego pierwiastka podczas uprawy i przekształcenia go w odpowiednie formy, stając się potencjalnym rezerwuarem selenu [Mazej i wsp., 2006; Pazzarossa i wsp., 2007].

Prowadzono badania nad wpływem dodatku selenianu(VI) sodu do upraw cykorii (*Cichorium intybus*) i stwierdzono, że selen był wydajnie akumulowany w liściach. Mimo wysokiego poziomu selenu, nie zaobserwowano objawów toksycznych dla roślin, tj. zapachu czosnku, czerwonych plam na korzeniach oraz czarnych plam i usychania liści. Selen był akumulowany głównie w takiej formie, w jakiej został dodany do uprawy, czyli w formie selenianu(VI) [Mazej i wsp., 2006].

Dodatek selenu do upraw ziemniaka powoduje obniżenie zawartości azotanów(V) i glikoalkaloidów. Spadek ilości tych substancji zależy z kolei od dojrzałości bulw i chemicznej formy dodanego pierwiastka. Niektórzy autorzy podają, że na efekt ten wpływa również ilość dodanego selenu i wiek roślin. Ponadto, dodatek selenianu(VI) do upraw ziemniaka wpływa pozytywnie na tworzenie się skrobi, poprzez wzmożenia metabolizmu węglowodanów. Prowadzono także badania nad wpływem niektórych polisacharydów

tworzących związki addycyjne z selenem(IV), takich jak skrobia, pochodne celulozy i amylopektyna, na zdolność przyswajania selenu przez rośliny i jego właściwości toksyczne [Ferri i wsp., 2007; Pazarossa i wsp., 2007].

2. Produkty spożywcze pochodzenia zwierzęcego

Zawartość selenu w rybach dostępnych we Włoszech wynosi od 0,073 $\mu\text{g/g}$ dla okoni do 0,734 $\mu\text{g/g}$ dla tuńczyka (średnia wartość 0,307 $\mu\text{g/g}$). Wartości te są zgodne z wartościami dla ryb konsumowanych w Anglii, Belgii i Hiszpanii [Plessi i wsp., 2001]. W takich gatunkach ryb, jak: pstrąg, makrela, łupacz i wilk morski, stężenie selenu jest rzędu 0,300 $\mu\text{g/g}$ [Zagrodzki, 2000a]. Ryby morskie pochodzące z północno-zachodniego Atlantyku zawierają wyższy poziom tego pierwiastka, w granicach od 0,168 do 0,825 $\mu\text{g Se/g}$, niż ryby słodkowodne akwenów wschodnich obszarów USA, które zawierają od 0,143 do 0,576 $\mu\text{g Se/g}$. Mięso krabów dostępne na rynku brazylijskim zawiera selen w ilości około 0,84 $\mu\text{g/g}$ [Foster i Sumar, 1997].

W jajkach selen występuje w różnych formach, a jego zawartość zależy przede wszystkim od podaży tego pierwiastka w diecie kur. W żółtku selen związany jest z fosfoawidyną, natomiast w białku jaja kurzego związany jest głównie z owoalbuminą (56% całkowitej ilości) [Grabowska-Bochenek i wsp., 2000]. Ilość selenu w jajach na terenie Niemiec wynosi 0,863 $\mu\text{g/g}$, we Włoszech 0,409 $\mu\text{g/g}$, a w Szkocji zaledwie 0,066 - 0,210 $\mu\text{g/g}$ [Zagrodzki, 2000a].

Badania wykazały duże różnice stężeń selenu w tych samych produktach mięsnych pochodzących z różnych krajów. Wątroba świńska dostępna na rynku słowackim zawiera selen w stężeniu 0,231 $\mu\text{g/g}$, podczas gdy importowana z Anglii zawiera go w ilości 0,575 $\mu\text{g/g}$. Zawartość selenu w wołowinie słowackiej wynosi 0,018 $\mu\text{g/g}$ [Kadrabova i wsp., 1997]. Z przeprowadzonych badań wynika, że wołowina amerykańska zawiera selen w ilości 0,363 $\mu\text{g/g}$, wątroba wołowa 0,454 $\mu\text{g/g}$, natomiast nerki wołowe aż 1,41 $\mu\text{g/g}$. Ilość selenu w mięsie wieprzowym w USA jest nieco niższa i wynosi 0,217 $\mu\text{g/g}$, jednak najniższą ilość tego pierwiastka stwierdzono w drobiu 0,106 $\mu\text{g/g}$ [Nikonorow, 1980]. Zawartość selenu w mięsie reniferów żyjących na terenie Finlandii waha się w granicach 0,34 - 2,21 $\mu\text{g/g}$, podczas gdy mięso wołowe zawiera 0,17 - 0,95 $\mu\text{g Se/g}$ [Sager, 1993]. Zawartość selenu w różnych rodzajach mięs dostępnych w handlu w niektórych krajach przedstawia Tabela 5.

Tabela 4. Zawartość selenu w wybranych produktach roślinnych w różnych krajach [ng/g].

Produkty żywnościowe pochodzenia roślinnego	Słowenia [Smrkolj i wsp., 2005]	Hiszpania [Diaz-Alarcon i wsp., 1996]	Turcja [Saygi i wsp., 2007]	Słowacja [Kadrabova i wsp., 1997]	Wielka Brytania [Barclay i wsp., 1995]	Grecja [Pappa i wsp., 2006]	Polska [Gawłowska i Masłowska, 2001]	Australia [McNaughton i Marks, 2002]
owoce	banany			5,8-7,9		4,3-5,7		3,0-10,8
	brzoskwinia							58,0
	cytryna					1,1-2,2		
	gruszka					4,7-7,9		3,0-5,0
	jablka			0,8-2,5		1,1-1,9		3,0-5,0
	kiwi					3,4-4,5		
	mandarynki			1,6-2,0		2,0-5,1		
	pomarańcze			0,8-1,3		3,4-5,1		3,0-7,0
	truskawki			3,1-3,3				
	winogrono							4,0-7,1
wiśnie				1,1-3,3				
warzywa	brokuły					6,1-11,8		
	cebula	1,1-10,5		20,0-22,0	0,7-21,0	7,2-7,3		7,1-58,3
	czosnek			49,0-53,0	1,4-129,0	12,7-14,6		
	cykoria	0,4-10,4						
	fasola	52,6-21,3	0,15-0,27*		19,2-82,0	20,8-28,1		
	groch		94,0-110,0		32,5-50,5			
	zielony					1,0-2,0		
	kalafior				1,2-4,7	1,1-47,0		
	kapusta	1,1-76,7			2,0-16,6			16,0
	koper					10,9-15,9		
	kukurydza		2,1-7,6					12,8-22,3
	marchew	0,6-11,6			0,7-2,6	3,6-8,5		4,0-7,1
	ogórek	1,6-24,3						
	pietruszka	1,4-24,2			0,7-3,2	6,9-7,4		
	pomidory	1,1-29,1			0,3-0,7	2,2-2,4		0,5
	por				1,6-2,6			
rzodkiewka	4,5			0,7				
sałata	0,3-20,0			0,5-1,3	0,9-3,8		3,0-22,8	
seler					2,0-48,0			
ziemniaki	1,1-1,7			0,5-5,7	7,0-28,0			

orzechy	migdały		71,0-112,0			3,0-19,0	5,3-8,7		
	orzechy laskowe			0,11-0,13*		8,0-36,0			
	orzechy włoskie		0,41*				17,0-21,4		
	orzechy ziemne		0,16-0,54*			12,0-60,0			
	pistacje		0,14-0,19*				25,2-40,3		
zboża	gryka	43,1				5,0-23,0		0,18-0,758	
	jęczmień nasiona sezamu						0,25-1,34*		
	pszenica		31,7-39,4	75,0-85,0					
	ryż biały		12,0-24,0	0,14-0,16*	23,5-34,0		17,0-20,0	0,10-0,23*	
	ryż brązowy					40,0-140,0			
produkty mączne	chleb biały		31,5-77,9		14,3-21,5	18,0-160,0	37,9-119,1	0,29-1,00*	80,0-109,0
	chleb żytni				15,5-18,5				
	makaron		19,4						
	mąka pszenna biała		32,2		15,0-32,3	17,0-36,0	0,42-0,63*		
	mąka pszenna brązowa					23,0-85,0			
	mąka kukurydziana					1,0-6,0		0,52*	
	mąka ziemniaczana							0,37*	
	mąka żytnia							0,53-0,64*	

* zawartość selenu podano w µg/g

Tabela 5. Zawartość selenu w mięsie w wybranych krajach [Zagrodzki, 2000a].

Rodzaj mięsa	Kraj	Zawartość selenu [µg/g]
Mięso wieprzowe	Niemcy	0,502
	Włochy	0,062
	Szkocja	0,033 – 0,489
Mięso wołowe	Niemcy	0,214
	Włochy	0,034
	Szkocja	0,056 – 0,489
Drób	Niemcy	0,573
	Włochy	0,029
	Szkocja	0,072 – 0, 455

3. Mleko, produkty mleczne i mleko ludzkie

Zawartość selenu w mleku zależy od zasobności w ten pierwiastek gleby i roślin (pasz), które spożywają zwierzęta. W wielu krajach przeciętna ilość selenu w mleku krowim waha się w granicach 2 - 58 µg/l [Kończak i wsp., 1996]. Dostępne na rynku amerykańskim sery zawierają od 0,054 do 0,101 µg Se/g [Nikonorow, 1980].

Mleko ludzkie zawiera selen w zakresie 0,098 - 0,155 µg/g. Oferowane w handlu różne formy mleka dla dzieci mają tylko od 0,012 do 0,063 µg/g, prawdopodobnie dlatego, że mleko krowie wykazuje niższy poziom selenu. Taka forma żywienia niemowląt dostarcza ok. 3,5 µg Se na dobę, podczas gdy karmienie piersią dostarcza niemowlętom aż 13,3 µg tego pierwiastka na dobę [Sager, 1993]. W porównaniu z modyfikowanym mlekiem krowim, wyższą zawartość selenu stwierdzono w odżywkach produkowanych z soi, serwatki lub mięsa. Wskutek niższej zawartości selenu w odżywkach w stosunku do mleka ludzkiego, dzieci nie karmione piersią spożywają znacznie mniejsze ilości tego pierwiastka [Zagrodzki, 2000a].

4. Woda pitna i napoje

W wodzie pitnej stężenie selenu jest bardzo niskie i wynosi 0,2 - 10 µg/l, średnio 3,5 µg/l, przy czym w wodach niektórych części świata stężenie tego pierwiastka dochodzi nawet do 500 µg/l [Nikonorow i Kozłowska-Urbanek, 1987].

Dostępne na rynku polskim naturalne wody mineralne zawierają selen w ilości 0,074 - 0,688 $\mu\text{g/l}$. Natomiast poziom selenu w sokach owocowych waha się w granicach 0,470 - 0,900 $\mu\text{g/l}$ [Gawłowska i Masłowska, 2000]. Niemieckie wina czerwone zawierają ten pierwiastek w zakresie 0,400 - 0,790 $\mu\text{g/l}$, natomiast belgijskie piwa 0,200 - 15,2 $\mu\text{g/l}$ [Sager, 1993].

VII. Spożycie selenu w różnych krajach

W zależności od zawartości selenu w przyjmowanym pożywieniu, rodzaju diety oraz wieku mieszkańców, różne jest dobowe spożycie tego pierwiastka w poszczególnych krajach. Dla przykładu dobowe spożycie selenu z pożywieniem w Nowej Zelandii waha się w granicach 5 - 70 $\mu\text{g/dobę}$, w Szwecji ok. 38 $\mu\text{g/dobę}$, we Francji 40 - 60 $\mu\text{g/dobę}$, w Hiszpanii 72 - 95 $\mu\text{g/dobę}$, w USA 60 - 240 $\mu\text{g/dobę}$, a w Wenezueli 80 - 500 $\mu\text{g/dobę}$, w Polsce 30 - 40 $\mu\text{g/dobę}$ [Zagrodzki, 2000a; Wasowicz wsp., 2003].

Spożycie selenu przez niemowlęta karmione piersią na terenach selenonośnych przekracza 200 $\mu\text{g/dobę}$, natomiast na terenach ubogich w ten pierwiastek spada poniżej 3 $\mu\text{g/dobę}$. We Francji najwyższe spożycie selenu odnotowano u farmerów, 59,5 $\mu\text{g/dobę}$, najniższe natomiast u pracowników z wyższym wykształceniem, 39,8 $\mu\text{g/dobę}$ [Zagrodzki, 2000a].

VIII. Suplementacja selenem

1. Sposoby suplementacji selenem

Niedobory selenu u ludzi zdrowych wynikają z małej zawartości tego mikroelementu w lokalnie produkowanych artykułach spożywczych albo ze spożywania głównie takich produktów, które zawierają niewielkie jego ilości. Przewlekłe niedobory selenu mogą wystąpić u chorych żywionych pozajelitowo, w schorzeniach metabolicznych, w zespołach upośledzonego wchłaniania oraz stosujących dietę ubocznie eliminującą bogate w selen składniki, np. chorzy na fenylketonurię lub chorobę syropu klonowego [Zagrodzki, 2000a].

Z powodu niskiego stężenia selenu w środowisku naturalnym i w konsekwencji niskiego przyjmowania tego pierwiastka z pożywieniem, Finlandia stała się pierwszym krajem w świecie, który rozpoczął suplementację selenem. Od 1969 r. stosowano tam dodatki związków selenu do pasz, a od 1984 r. uzupełnia się poziom selenu w glebach na zasadzie

wzbogacania w ten pierwiastek nawozów mineralnych [Umińska, 1990]. Dodaje się selen w postaci selenianu(VI) sodu, w ilości 6 – 16 mg/kg nawozu, czyli zużywa się 20 ton selenu na rok. Suplementacja spowodowała, że przyjmowanie pierwiastka z pożywieniem wzrosło w ciągu 4 lat około 3 razy. Selenian(VI) sodu dodawany jest do nawozów mineralnych w ilości 16 mg Se/kg nawozu dla upraw zbóż oraz 6 mg Se/kg nawozu dla traw [Wang i wsp., 1994b; Wang i wsp., 1995].

Efekty suplementacji selenem pojawiają się zwykle po 2 do 4 tygodniach. Efekty te zależą głównie od [Neve, 1991]:

- ✓ wielkości niedoboru selenu w organizmie,
- ✓ przyjmowanej dawki selenu,
- ✓ formy chemicznej selenu.

Odpowiedź jest szybsza, a selen łatwiej przyswajalny w przypadku stosowania organicznych form tego pierwiastka, tj. DL-selenometioniny, niż przy stosowaniu związków nieorganicznych, tj. selenianu sodu(IV) lub (VI), kwasu selenowego(IV).

2. Suplementy diety zawierające selen

Niewystarczająca ilość selenu dostarczana organizmowi wraz z pożywieniem może być uzupełniana na drodze stosowania odpowiednio zbilansowanych preparatów farmaceutycznych, jak również suplementów diety zawierających ten pierwiastek. Są to głównie preparaty witaminowo-mineralne, w większości sprzedawane bez recepty, dopuszczone do obrotu w aptekach otwartych, punktach aptecznych, sklepach zielarskich, a niekiedy nawet w drogeriach i sklepach ogólnospożywczych.

Zawarty w tego typu preparatach selen występuje w formie organicznej, tj. selenometioniny lub selenocysteiny, bądź w formie nieorganicznej, w postaci selenianów(IV) i (VI). Często polecane są również drożdże wzbogacone w selen w postaci L-selenometioniny [Czerwińska, 2007].

Dostępne na rynku preparaty wykazują wielokierunkowe działanie. Oprócz uzupełniania niedoborów selenu wpływają również korzystnie na układ krążenia, wspomagają leczenie miażdżycy, nadciśnienia i choroby niedokrwiennej serca. Potencjalnie zmniejszają również ryzyko wystąpienia niektórych nowotworów, mają wpływ na prawidłowe funkcjonowanie tarczycy oraz na płodność [Czerwińska, 2007].

IX. Selen w roślinach

1. Biochemia selenu u roślin

Selen nie jest uznawany jako niezbędny pierwiastek dla komórek roślinnych. Jednak zdolność niektórych roślin do akumulacji i przekształcania tego pierwiastka w bioaktywne związki ma duże znaczenie dla środowiska naturalnego oraz dla zdrowia i prawidłowego odżywiania ludzi. Rośliny, które gromadzą w swoich tkankach znaczne ilości selenu, stanowią unikalne źródło materiału genetycznego, który może być użyty do badań nad zmianami metabolizmu tego pierwiastka, tolerancji wysokich stężeń antykancerogennych związków selenu w roślinach uprawnych, oraz do badań nad eliminacją selenu z zanieczyszczonych tym pierwiastkiem gleb i wód [Ellis i Salt, 2003; Pazzarossa i wsp., 2007].

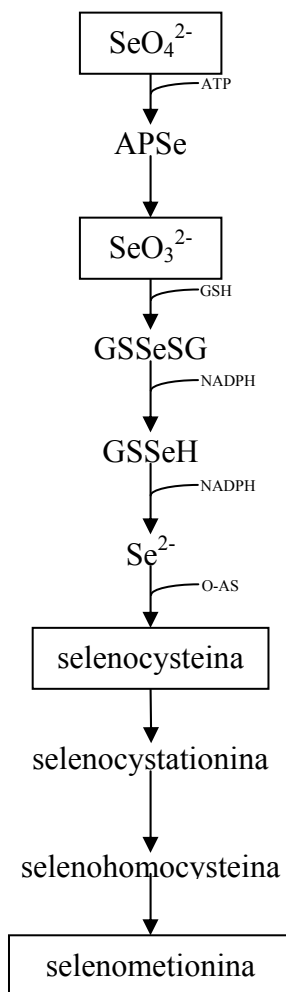
Selen w roślinach występuje głównie jako selenometionina, inne zidentyfikowane związki to selenian(IV) i (VI), selenocysteina, selenohomocysteina, selenometylo-selenocysteina, selenotlenek selenometioniny, dimetylodiselenek [Smrkolj i Stibilj, 2004, Pappa i wsp., 2006]. Jednym z bardziej skutecznych antykancerogennych związków selenu jest metyloselenocysteina (MetSeCys), którą wykryto u niektórych gatunków roślin z rodzin *Brassica* i *Allium*, jak również niektórych gatunków *Astragalus* [Ellis i Salt, 2003].

Rośliny pobierają z gleby selen głównie jako selenian(IV) i (VI), przy czym SeO_4^{2-} konkuruje z siarczanami(VI) o pobranie przez rośliny. Selenian(VI) jest transportowany głównie do chloroplastów, gdzie przechodzi drogę metaboliczną przebiegającą zasadniczo tak, jak metabolizm siarczanów(VI). W tym procesie biorą udział takie same enzymy i prowadzą do tworzenia selenowych analogów cysteiny i metioniny, tj. selenometioniny i selenocysteiny [Lauchli, 1993; Ellis i Salt, 2003; Pazzarossa i wsp., 2007].

Selenian(VI) jest aktywowany przez sulfurylazę ATP do adenozyno 5'-fosfoselenianu (APSe), a następnie redukowany do selenianu(IV) przez reduktazę adenozyno 5'-fosfosiarczanową (APS) [Lauchli, 1993; Eblis i Salt, 2003]. Dalej jest on redukowany do selenku po związaniu do GSH (zredukowany glutation) i utworzeniu selenotrisiarczku (GSSeSG), który jest redukowany najpierw do selenoglutationu (GSSeH), a w końcu do selenku. Selenek reaguje następnie z O-acetyloseryną (O-AS) i tworzy się selenocysteina (SeCys), która może być dalej przekształcona do selenometioniny (SeMet). Przemiany te zilustrowano na Rys.1.

Selenometionina może być metylowana do dimetyloselenku (DMSe), który jest uwalniany z roślin. Pierwszym krokiem w biosyntezie DMSe jest metylacja selenometioniny

do metyloselenometioniny, z której w końcowym efekcie powstaje dimetyloselenek [Ellis i Salt, 2003].



Rys. 1. Droga metaboliczna selenu w roślinach [Lauchli, 1993].

Uwalnianie selenu przez rośliny do atmosfery może zostać wykorzystane jako alternatywny sposób usuwania nadmiaru tego pierwiastka z zanieczyszczonych gleb i wód. Rośliny usuwają selen ze środowiska przez pobieranie i akumulowanie w tkankach oraz przez uwalnianie lotnych związków do atmosfery. Tworzenie się w drodze metabolizmu nietoksycznego, lotnego dimetyloselenku ma tą zaletę w porównaniu z akumulacją, że nie powoduje wzrostu roślin z wysoką zawartością tego pierwiastka [Zayed i wsp., 1998; Ellis i Salt, 2003].

2. Zawartość selenu w roślinach

Zawartość selenu w roślinach zmienia się w szerokim zakresie wartości, od $< 1 \mu\text{g/g}$ w większości roślin uprawnych do $20000 \mu\text{g/g}$ u niektórych gatunków *Astragalus* [Lauchli, 1993; Jovic i wsp., 1995]. Zróżnicowanie to zależy zarówno od gatunku rośliny, jak i od stężenia pierwiastka w glebie oraz formy chemicznej, w której on występuje. Selen w glebie może występować jako selenek(II), selen pierwiastkowy oraz seleniany(IV) i (VI). Rośliny zielone pobierają o wiele łatwiej z gleby rozpuszczony w niej selenian(VI) niż selenian(IV). Na biodostępność selenu z gleby w dużym stopniu mają wpływ następujące czynniki [Jović i wsp., 1995; Kos i wsp., 1998; Kabata-Pendias i Pendias, 1999; Rayman, 2000; Smrkolj i Stibilj, 2004; Pazzarossa i wsp., 2007]:

- rodzaj gleby i jej pH,
- zawartość materii organicznej,
- struktura gleby,
- aktywność mikrobiologiczna,
- ustrój wodny,
- potencjał oksydacyjno-redukcyjny,
- zawartość tlenków typu Me_2O_3 ,
- warunki klimatyczne, w tym temperatura i ilość opadów,
- kwasy glebowe,
- tworzenie połączeń kompleksowych z Al, Fe,
- zawartość CaCO_3 ,
- interakcje między selenem i jonami, tj. siarczanowym(VI) i fosforanowym(V),
- zasolenie,
- obecność P, S, Mn, Cu, Zn, Cd i W, gdyż selen jest antagonistą tych pierwiastków.

W kwaśnej, gliniastej glebie zawierającej dużo materii organicznej, selen występuje jako selenek i siarczek selenu. Związki te są słabo rozpuszczalne w wodzie i dlatego są niedostępne dla roślin. W dobrze zdrenowanych (osuszonych) glebach o pH obojętnym, selen występuje w formie selenianów(IV). Obecność związków żelaza w takim typie gleby może zmniejszać dostępność tego pierwiastka dla roślin. W alkalicznych, dobrze utlenionych glebach selen występuje w postaci selenianów(VI), które są bardzo mobilne i dostępne dla roślin [Kos i wsp., 1998].

Większość roślin zawiera małą ilość selenu, mniej niż 25 $\mu\text{g/g}$ s.m., która rzadko przekracza 100 $\mu\text{g/g}$ s.m. nawet, jeśli rośliny rosną na glebach zasobnych w ten pierwiastek. Rośliny takie określane są jako tzw. nie-akumulatory selenu [Ellis i Salt, 2003]. Wśród roślin wyższych są również takie, które tolerują wyższe stężenia selenu w glebie i posiadają jednocześnie zdolność do jego kumulacji w tkankach, są to tzw. selenoakumulatory [Lauchli, 1993; Ellis i Salt, 2003]. Występowanie w środowisku naturalnym roślin selenoakumulatorów jest znane w literaturze od ponad 70 lat [Ellis i Salt, 2003].

Biorąc powyższe pod uwagę, rośliny można podzielić na trzy grupy. Pierwsze dwie grupy roślin są akumulatorami selenu, mogą być wskaźnikami wspomagającymi identyfikację selenonośnych obszarów. Grupę I stanowią rośliny, tzw. podstawowe (pierwszorzędowe) identyfikatory - wskaźniki (hiperakumulatory), które zawierają od 1000 - 20000 $\mu\text{g Se/g}$ i obejmują gatunki roślin z rodzaju *Astragalus*, *Conopsis*, *Stanleya*, *Neptunia* i *Xylorhiza*. Rośliny II grupy są określone jako tzw. drugorzędowe wskaźniki, rzadko zawierają więcej niż 50 - 100 $\mu\text{g Se/g}$, chociaż wg niektórych źródeł są to wielkości rzędu od setek $\mu\text{g/g}$ do ok. 1000 $\mu\text{g/g}$. Do tej grupy zalicza się gatunki z rodzaju: *Aster*, *Astragalus*, *Atriplex*, *Costellera*, *Grindelia* i *Melilotus* [Lauchli, 1993; Ellis i Salt, 2003; Jović i wsp., 1995]. Rośliny stanowiące III grupę to przede wszystkim trawy, zboża, chwasty i rośliny uprawne. Zawierają nie więcej niż 50 $\mu\text{g Se/g}$, z reguły mniej niż 1 $\mu\text{g/g}$ [Lauchli, 1993].

Zdarzają się jednak odstępstwa od tej zasady, co potwierdziła analiza stężeń selenu w gatunkach roślinach z rodzaju *Astragalus* wegetujących na glebach Japonii (Tabela 6). Stwierdzono, że zawierają one selen w zakresie stężeń od 0,06 do 2,17 $\mu\text{g/g}$ i jest on skorelowany niskim poziomem selenu w glebie. Najwyższe stężenie selenu wykazały rośliny z gatunku *Astragalus sinicus*, a najniższe z *Astragalus secundus* [Mizutani i wsp., 1996]. *Astragalus membranaceus* jest z kolei rośliną, z której pozyskuje się korzeń będący surowcem leczniczym opisanym przez farmakopeę japońską i chińską [Zarawska, 1997]. Surowiec pochodzący z Chin zawiera selen w ilości 0,94 $\mu\text{g/g}$, podczas gdy uprawiany w Japonii charakteryzuje się niższą zawartością selenu 0,45 $\mu\text{g/g}$. Chociaż wiele gatunków roślin z rodzaju *Astragalus* jest zdolnych do akumulacji selenu, znany jest również gatunek nie akumulujący selenu - *Astragalus crassicaarpus*, w którym zawartość tego pierwiastka jest niska [Jović i wsp., 1995].

Selen wywołuje efekt toksyczny wówczas, gdy dodaje się go do upraw selenowrażliwych, nie akumulujących tego pierwiastka roślin. Wbudowanie selenoaminokwasów do białek może prowadzić do dysfunkcji enzymów, zmieniając ich katalityczną aktywność. Selenoakumulatory są zdolne tolerować wysokie stężenia tego

pierwiastka dzięki dwóm głównym mechanizmom. Pierwszy polega na tym, że selen jest w dużej mierze wyłączony z białek i akumulowany w niebiałkowych aminokwasach, szczególnie selenometyloselenocysteinie i selenocystationinie. W rodzaju *Astragalus*, tolerujące selen gatunki włączają około 10 razy mniej selenu w białka niż selenowrażliwe nieakumulatory. Drugi mechanizm polega na tym, że u niektórych selenoakumulatorów, selenometionina nie jest syntetyzowana i przez to selen nie jest włączany w struktury białkowe [Lauchli, 1993].

Tabela 6. Zawartość selenu w niektórych gatunkach roślin z rodzaju *Astragalus* [Mizutani i wsp., 1996].

Gatunek rośliny	Zawartość selenu [µg/g]
<i>Astragalus adscendes</i>	0,44 ± 0,08
<i>Astragalus adsurgens</i>	0,50 ± 0,29
<i>Astragalus alpinus</i>	0,26 ± 0,15
<i>Astragalus australis</i>	0,94 ± 0,37
<i>Astragalus bisulcatus</i>	0,36 ± 0,11
<i>Astragalus centralpinus</i>	1,26 ± 0,22
<i>Astragalus mongholicus</i>	0,80 ± 0,19
<i>Astragalus racemosus</i>	1,15 ± 0,30
<i>Astragalus sachalinensis</i>	0,07 ± 0,01
<i>Astragalus secundus</i>	0,06 ± 0,03
<i>Astragalus shiroumensis</i>	0,37 ± 0,22
<i>Astragalus sikokianus</i>	1,00 ± 0,51
<i>Astragalus membraneus</i> (Chiny)	0,94 ± 0,70
<i>Astragalus membraneus</i> (Japonia)	0,45 ± 0,07
<i>Astragalus sinicus</i>	2,17 ± 0,61

X. Metody oznaczania selenu

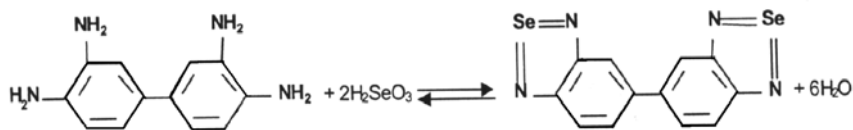
Zawartość selenu w próbkach zarówno biologicznych jak i środowiskowych jest niska, dlatego oznaczenie jego ilości wymaga odpowiednio czułych metod. Do oznaczania tego pierwiastka stosowane są: spektrofluorymetria, spektrofotometria, absorpcyjna spektrometria atomowa (AAS), emisyjna spektrometria atomowa (AES), aktywacja neutronowa (NAA),

chromatografia gazowa (GC), wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC), polarografia, impulsowo-różnicowa katodowa woltamperometria odwrócona (DPCSV).

Dla zwiększenia czułości metod analitycznych niektóre techniki łączy się. Przykładem takich hybrydowych procedur analitycznych są: chromatografia cieczowa ze spektrometrią mas (LC-MS) [Capelo, 2006], spektrometria mas ze wzbudzeniem w indukcyjnie sprzężonej plazmie (ICP-MS) [Capelo, 2006; Palmer, 1998; Tamari, 1998; Zhou i Belzile, 1998], emisyjna spektrometria atomowa z techniką generacji wodorków (HG-AES) [Smrkołj i Stibilj, 2004], wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona z fluorescencyjną spektrometrią atomową, w której selen jest oznaczany techniką generacji wodorków (HPLC-UV-HG-AFS) [Mazej i wsp., 2006], spektrometria mas ze wzbudzeniem w indukcyjnie sprzężonej plazmie w połączeniu z wysokosprawną chromatografią cieczową (HPLC-ICP-MS) [Ferri i wsp., 2007], technika generacji wodorków w kombinacji z AES ze wzbudzeniem w indukcyjnie sprzężonej plazmie (HG-ICP-AES) [Martinez i wsp., 1997], połączenie techniki generacji wodorków i elektrotermicznej atomizacji w absorpcyjnej spektrometrii atomowej (HG-ET-AAS) [Allabashi i wsp., 1997].

1. Spektrofotometria

Do najstarszych metod stosowanych do ilościowego oznaczania selenu należą metody spektrofotometryczne. Zastosowanie spektrofotometrii w analizie selenu zapoczątkowało odkrycie przez Hoste'a 3,3'-diaminobenzydyny (DAB), która tworzy z selenem związek o żółtym zabarwieniu zgodnie z reakcją [Williams, 1986]:



Metody spektrofotometryczne opierają się na pomiarze absorbancji barwnych połączeń selenu(IV) z aromatycznymi diaminami, tj: 3,3'-diaminobenzydyną (DAB) [Cheng, 1956; Służewska, 1964; Masłowska i Janiak, 1991; Bryszewska i Pęczkowska, 1998], 2,3-diaminonaftalenem (DAN) i o-fenylendiaminą [Bryszewska i Pęczkowska, 1998], 2-aminofenylodiaminą [Kasterka, 1989], 1,2-diaminobenzenem [Kasterka, 1992], 4,5,6-triaminopirymidyną [Bodini i Alzamora, 1983], 5,5'-dimetylo-1,3-cykloheksadionem [Bodini i Pardo, 1990] i kwasem 1-naftyloamino-7-sulfonowym [Pyrzyńska, 1997].

Podstawą oznaczenia jest ilościowa i selektywna reakcja o-diamin z kwasem selenowym przebiegająca z utworzeniem połączenia, tzw. piazoselenolu, ekstrakcji tego połączenia do warstwy organicznej i pomiarze jego absorbancji [Gawłowska i Masłowska, 2000].

Zastosowanie w ilościowym oznaczaniu selenu wyżej wymienionych związków umożliwiło szerokie wykorzystanie spektrofotometrii w oznaczaniu tego pierwiastka, głównie w materiale roślinnym [Służewska, 1964; Masłowska i Brzostowska, 1986], warzywach [Suvaradhan i wsp., 2007], odpadach poprodukcyjnych [Masłowska i Janiak, 1991], materiale biologicznym [Bem, 1979], arseniku używanym do produkcji półprzewodników [Cheng, 1956], kosmetykach [Masłowska i Baranowski, 1982], witaminach [Pyrzyńska, 1997], w wodach mineralnych i sokach owocowych [Gawłowska i Masłowska, 2000] oraz moczu i kale [Lipiński i Służewska, 1968]. Metoda spektrofotometryczna jest obciążona dużym błędem i z uwagi na niską czułość zastępowana jest innymi metodami [Bryszewska i Pęczkowska, 1998].

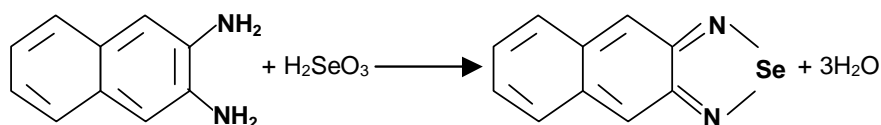
2. Spektrofluorymetria

Jedną z nowszych i chętnie stosowanych metod w analizie selenu jest metoda spektrofluorymetryczna. Jest określana jako prosta i niedroga [Borella i wsp., 1998].

Podstawą oznaczenia zawartości selenu jest reakcja selenu(IV) z o-diaminami: 2,3-diaminonaftalenem (DAN) [Cykor i Lott, 1965; Borella i wsp., 1998; Bryszewska i Pęczkowska, 1998; Palmer, 1998; Tamari, 1998], 2,3-diamino-1,4-dichloronaftalenem [Andersson i wsp., 1995], 2,3-diamino-1,4-dibromonaftalenem (Br₂-DAN) [Johansson i wsp., 1995], 3,3'-diaminobenzydyną (DAB) [Palmer, 1998], z utworzeniem piazoselenolu, który ekstrahowany jest do warstwy organicznej (cykloheksan, benzen, toluen, ksylen), a następnie mierzy się jego luminescencję przy długości fali wzbudzenia 360 - 380 nm i emisji 520 - 525 nm [Mejuto-Marti i wsp., 1987; Wang i Sippola, 1990; Danch i Drózd, 1996; Palmer i Thiex 1997; Bryszewska i Pęczkowska, 1998].

Najczęściej stosowanym odczynnikiem w spektrofluorymetrycznym oznaczaniu selenu jest 2,3-diaminonaftalen, który wiąże się specyficznie z selenem(IV). Utworzone połączenie (4,5-benzopiazoselenol) dobrze ekstrahuje się do rozpuszczalników organicznych ze środowiska o odczynie kwaśnym. Reakcja pomiędzy kwasem selenowym(IV) i DAN zachodzi ilościowo przy pH 1 ÷ 2,5. Zakres ten sugeruje, że niezdysojowany kwas

selenowy(IV) i pojedyncza sprotonowana amina reagują zgodnie z równaniem [Bye, 1988; Mejuto-Marti i wsp., 1988; Wang i Sippola, 1990; Palmer, 1998]:



Spektrofluorymetria umożliwia oznaczenie selenu w ludzkim materiale biologicznym: osoczu, moczu, płynie stawowym, włosach, mózgu, krwi, mleku i nerkach [Foster i Sumar, 1995; Alegria, 1996; Danch i Drózdź, 1996; Trafikowska i wsp., 1996], paszach [Palmer i Thiex, 1997], żywności wysokotłuszczowej [Bellanger, 1995], roślinach uprawnych [Dong i wsp., 1987; Ayiannidis i Voulgaropouls, 1990; Mizutaniet i wsp., 1996], warzywach i owocach [Mejuto-Marti i wsp., 1988], owczej wełnie, krwi i wątrobie [Ayiannidis i Voulgaropouls, 1990], wodach naturalnych [Wang i wsp., 1991], wodach rzecznych, jeziornych i źródłanych [Wang i wsp., 1994a] oraz w glebie [Dong i wsp., 1987].

Wadą tej metody jest czaso- i pracołłonny cykl przygotowywania próbek, konieczność utrzymywania ściśle określonego pH podczas tworzenia połączenia selenu z o-diaminami, jak również konieczność wyeliminowania silnych utleniaczy i reduktorów oraz wprowadzenie odczynników kompleksujących [Bryszewska i Pęczkowska, 1998].

W większości oznaczeń śladowych ilości selenu wykorzystuje się próbki o objętości od 0,4 do 4 ml i jest to objętość wystarczająca do oznaczenia selenu nawet w stężeniu 0,4 $\mu\text{g/l}$ [Bryszewska i Pęczkowska, 1998; Trafikowska i wsp., 1996]. W literaturze spotyka się prace, w których analizowano poziom selenu w materiale biologicznym przy granicy oznaczalności równej 0,8 $\mu\text{g/l}$ [Rodriguez, 1994].

3. Spektrometria atomowa

3.1. Absorpcyjna spektrometria atomowa (AAS)

W analizie ilościowej metodą AAS wykorzystuje się liniową zależność absorpcji promieniowania przez wolne atomy od ich stężenia [Szczepaniak, 2004]. Ważnym etapem oznaczania jest atomizacja próbki, czyli przeprowadzenie analizowanego pierwiastka w postać wolnych atomów. W zależności od techniki wykonania tego procesu, wyróżnia się absorpcyjną spektrometrię atomową z:

- płomieniową techniką atomizacji (F-AAS)
- elektrotermiczną techniką atomizacji (ET-AAS)
- wodorkową techniką atomizacji (HG-AAS)
- techniką zimnych par (CV-AAS).

3.1.1. Technika atomizacji płomieniowej (F-AAS)

F-AAS umożliwia oznaczenie selenu z ilościowym określeniem udziału różnych form utlenienia tego pierwiastka, tj. selenianów(IV) i (VI), dimetyloselenku i zmetylowanych, organicznych pochodnych selenowych. Związki te należy jednak zredukować przed oznaczeniem, ponieważ bezpośrednio analizować można jedynie selen na -2 stopniu utlenienia, który występuje w postaci lotnych związków: selenowodoru i dimetyloselenku. Do redukcji używany jest kwas solny o stężeniu 6 mol/l lub NaBH_4 o stężeniu 1 mol/l w roztworze kwasu solnego [Bryszewska i Pęczkowska, 1998]. Aby można zastosować tę technikę do oznaczenia śladowych ilości selenu, konieczne jest zagęszczenie analitu na drodze odparowania lub współstrącenia, ekstrakcji do małych objętości rozpuszczalników organicznych, zateżenia wodorków w grafitowym piecu lub chromatografii jonowymiennej [Bryszewska i Pęczkowska, 1998; Szczepaniak, 2004].

Zastosowanie techniki F-AAS w analizie śladowych ilości selenu w różnych matrycach nie zawsze daje zadawalające wyniki, dlatego stosuje się absorpcyjną spektrometrię atomową z techniką atomizacji wodorkowej (HG-AAS) lub z wykorzystaniem kuwety grafitowej (GF-AAS) [Palmer, 1998].

3.1.2. Technika atomizacji elektrotermicznej (ET-AAS)

Technika AAS z wykorzystaniem kuwety grafitowej (GF-AAS) jest popularną techniką oznaczania śladowych ilości pierwiastków, w tym również selenu [Palmer, 1998]. Oznaczanie z użyciem kuwety grafitowej jest prostą i ekonomiczną procedurą oznaczania selenu w żywności oraz w wodzie [Oliveira i wsp., 2004], próbkach środowiskowych [Aller, 1996; Gonzalez-Niet i Lopez-Sanchez, 2006; Saygi i wsp., 2007], płynach fizjologicznych [Borella i wsp., 1998], krwi ludzkiej [Aller, 1996; Mestek i wsp., 1997], wodzie mineralnej [Oliveira i wsp., 2004; Masłowska i Gawłowska, 1999], wielominerałowych preparatach do

podania pozajelitowego [Łozak i Fijałek, 1998], dymie tytoniowym [Schneider i Krivan, 1993].

Pomiary dokonuje się przy długości fali 196 nm stosując lampę z katodą węgłową (HCL) [Garcia-Olalla i Robles, 1991; Aller, 1996; Łozak i Fijałek, 1998] lub z wyładowaniem bezelektrodowym (EDL) [Aller, 1996; Łozak i Fijałek, 1998; Zhou i Belzile, 1998; Oliveira i wsp., 2004].

W analizie prowadzonej metodą AAS występują zakłócenia, które można sklasyfikować do dwóch grup: interferencje spektralne i interferencje niespektralne - matrycowe. Interferencje spektralne wywołują ujemne lub dodatnie odchylenia linii zerowej i mogą zniekształcać przez to wynik. Aby wykonać prawidłowo analizę należy dokonać korekcji tła. Wykorzystywane jest do tego celu promieniowanie ciągle lampy deuterowej [Szczepaniak, 2004]. Interferencje spektralne eliminowane są również poprzez zastosowanie kompensacji tła z wykorzystaniem efektu Zeemana i Smith-Hieftje [Garcia-Olalla i Robles, 1991; Garcia-Olalla i Aller, 1992; Oliveira i wsp., 2004; Gonzalez-Niet i Lopez-Sanchez, 2006].

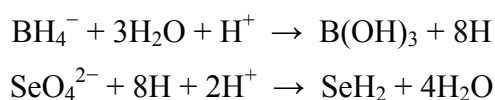
Drugi rodzaj interferencji występujących podczas analizy to efekt matrycowy, wywoływany przez substancje inne niż analit, znajdujące się w analizowanej próbce [Szczepaniak, 2004]. Pochodzą one od jonów żelaza i jonów fosforanowych, a także obecnych w materiale biologicznym chlorków metali ziem alkalicznych [Garcia-Olalla i Robles, 1991]. W celu eliminacji tych interferencji dodaje się modyfikatory matrycy, które również chronią przed stratami selenu (wskutek lotności) oraz zwiększają jego trwałość chemiczną [Palmer, 1998].

Najczęściej stosowane są jako modyfikatory matrycy metale lub ich sole azotanowe: nikiel [Garcia-Olalla i Robles, 1991; Garcia-Olalla i Aller, 1992; Aller, 1996; Łozak i Fijałek, 1998; Zhou i Belzile, 1998; Borella i wsp., 1998], nikiel z magnezem [Tuzen i Saygi, 2007], miedź [Borella i wsp., 1998], magnez [Łozak i Fijałek, 1998], pallad [Aller, 1996; Borella i wsp., 1998; Łozak i Fijałek, 1998], pallad z magnezem [Garcia-Olalla i Robles, 1991], pallad z kwasem askorbowym [Garcia-Olalla i Robles, 1991; Garcia-Olalla i Aller, 1992], srebro, platyna i iryd [Borella i wsp., 1998], srebro z miedzią, rod [Tamari, 1998], a także mieszaniny chlorków rtęci i palladu oraz chlorków kadmu i palladu [Garcia-Olalla i Robles, 1991]. Pirolityczny rozkład badanej próbki w obecności modyfikatorów pozwala zmniejszyć interferencje występujące w czasie analizy [Bryszewska i Pęczkowska, 1998].

3.1.3. Technika atomizacji wodorkowej (HG-AAS)

Technika generacji wodorków jest szeroko stosowaną metodą oznaczania śladowych ilości selenu, opartą na separacji selenu w formie selenowodoru (H_2Se) z matrycy próbki [Tamari, 1998; Szczepaniak, 2004; Mayer i wsp., 1992]. Charakteryzuje się wysoką czułością i precyzją, krótkim czasem wykonania analizy oraz brakiem interferencji związanych ze składnikami matrycy [Nakaguchi i Dong, 1998]. Czułość tej techniki zależy przede wszystkim od temperatury kuwety absorpcyjnej, szybkości przepływu gazu, stężenia odczynnika redukującego, szybkości redukcji selenu, objętości próbki analizowanej, stopnia utlenienia selenu i kwasowości roztworu [Mayer i wsp., 1992].

Zasada wodorkowej techniki atomizacji polega na wytworzeniu lotnych wodorków selenu i doprowadzenie ich do kuwety absorbującej promieniowanie, gdzie w podwyższonej temperaturze następuje termiczny rozkład wodorków i powstają wolne atomy [Szczepaniak, 2004]:



Oznaczanie selenu techniką generowania wodorków wymaga jego obecności w postaci selenu(IV). W konsekwencji analiza specjacyjna techniką HG-AAS dokonywana jest najpierw przez oznaczenie selenu(IV), a następnie oznaczenie całkowitej zawartości tego pierwiastka po redukcji selenu(VI) do (IV) [Moreno i wsp., 2003]. Żelazo, miedź i nikiel mogą powodować spadek wydajności procesu tworzenia wodorku selenu, ale zmieniając stężenie kwasu solnego, można wyeliminować ten efekt [Palmer, 1998].

Używając odpowiednich związków, np. 3-merkaptopropylotrimetylosilanu, można znacznie zwiększyć selektywność oznaczania selenu na +4 stopniu utlenienia w wodnych roztworach przez jego ekstrakcję cieczą - ciałem stałym [Sahin i wsp., 2003]. Natomiast stosując reagenty w postaci stałej (kwas winowy i borowodorek sodu), można zredukować czas wstępnego przygotowania próbki do analizy, zmniejszyć interferencje oraz zredukować ilość używanych odczynników [Maleki i wsp., 2005].

Technikę generacji wodorków zastosowano do oznaczeń selenu w wodach naturalnych [Palmer, 1998], osadach i wodach jeziornych [Rongrong i wsp., 1997], glebach [Palmer, 1998], tkankach ryb [Zhou i Belzile, 1998], surowicy krwi [Mayer i wsp., 1992; Maksimović i wsp., 1992; Navarro i wsp., 1995], krwi pełnej [Da-Qing Hao i wsp., 1996; Mestek i wsp.,

1997], włosach ludzkich [Maksimović i wsp., 1992; Nakaguchi i Dong, 1998], moczu [Borella i wsp., 1998], żywności [Palmer, 1998], mleku i produktach mlecznych [Foster i Sumar, 1995; Tamari i Kim, 1999], owocach, warzywach i napojach [Kadrabova i Madarić, 1997] oraz w surowcach roślinnych [Palmer, 1998].

3.2. Emisyjna spektrometria atomowa (AES)

Emisyjna spektrometria atomowa (AES) jest metodą analityczną opartą na zjawisku emisji promieniowania elektromagnetyczne przez wolne atomy w stanie wzbudzonym w postaci liniowego widma emisyjnego, charakterystycznego dla danego rodzaju atomów [Palmer, 1998; Szczepaniak, 2004]. W zakresie emisyjnej spektrometrii atomowej wyróżniono trzy metody analityczne: fotometrię płomieniową (F-AES), spektrografię klasyczną i plazmową emisyjną spektrometrię atomową (ICP-AES) [Szczepaniak, 2004].

Technika AES umożliwia oznaczenie selenu, jednak często wymagane jest dla zwiększenia wykrywalności zateżnienie analitu oraz łączenie AES z innymi technikami, tj.: HG-ICP-AES [Martinez i wsp., 1997], HPLC-UV-HG-AFS [Mazej i wsp., 2006].

Metodą AES oznaczono zawartość selenu w wodach naturalnych i próbkach biologicznych [Palmer, 1998], liściach i nasionach roślin [Ferri i wsp., 2001; Mazej i wsp., 2006] oraz warzywach [Smrkoļj i Stibilj, 2004].

4. Spektroskopia promieniowania rentgenowskiego

Promieniowanie rentgenowskie może być absorbowane lub emitowane przez materię, przy czym absorpcja lub emisja promieniowania X charakterystyczna jest dla wolnych atomów. W analizie selenu wykorzystuje się zarówno absorpcyjną, emisyjną, jak i fluorescencyjną spektroskopię rentgenowską.

Bezpośrednie wykorzystanie metody emisji promieniowania X do oznaczania selenu w materiale biologicznym nie jest możliwe ze względu na zbyt małą zawartość tego pierwiastka, dlatego konieczne jest zateżnienia próbki stosując np. procedurę spopielenia [Bryszewska i Pęczkowska, 1998].

Fluorescencyjną spektroskopię rentgenowską (XRF), zwaną też metodą wtórnej emisji wykorzystano do oznaczenia selenu w materiale roślinnym oraz roślinnych surowcach leczniczych. Selen zateżono stosując dwustopniową redukcję kwasem solnym lub kwasem

askorbowym. Uzyskany selen elementarny adsorbowano na węglu aktywnym, zbierano na specjalnym filtrze i następnie oznaczano [Mino i Ota, 1990].

W analizie specjacyjnej selenu w próbkach gleby stosuje się absorpcyjną spektroskopię rentgenowską. Zaletą tej metody jest możliwość użycia małych próbek, łatwość ich przygotowania, a także możliwość wykonania kolejnych pomiarów bez rozkładu próbek [Pickering i wsp., 1995].

5. Aktywacja neutronowa (NAA)

Metoda aktywacji neutronowej (NAA) jest metodą stosowaną do oznaczeń selenu w szerokim zakresie stężeń i w różnych próbkach [Palmer, 1998]. Polega ona na pomiarze intensywności promieniowania γ radionuklidów selenu: ^{75}Se ($t_{1/2} = 120$ d), $^{77\text{m}}\text{Se}$ ($t_{1/2} = 17,5$ s) i ^{81}Se ($t_{1/2} = 18,6$ min), tworzących się w efekcie napromieniowania próbki strumieniem neutronów [Tamari, 1998; Foster i Sumar, 1995]. Technika ta może być stosowana z/lub bez rozkładu (mineralizacji) próbek [Palmer, 1998; Tamari, 1998]. W tzw. NAA niedestrukcyjnym, bezpośredni pomiar nuklidów selenu jest trudny do wykonania z powodu interferencji z innymi radionuklidami, tj. ^{24}Na , ^{28}Al , ^{38}Cl , ^{32}P , ^{82}Br , które znajdują się najczęściej w matrycy próbek biologicznych i środowiskowych [Foster i Sumar, 1995; Niesiobędzka i Czauderna, 1996; Palmer, 1998; Tamari, 1998]. W celu eliminacji tych interferencji stosuje się mineralizację próbek, redukcję selenu, a także ekstrakcję związku selenu z DAN [Tamari, 1998]. Interferencji można także uniknąć wykorzystując do pomiarów izotop ^{75}Se o długim czasie półtrwania. Pozwala to wykonać pomiary po kilku tygodniach, w czasie których nastąpi spadek aktywności krótko żyjących radioizotopów ^{24}Na , ^{42}K , ^{32}P , ^{38}Cl , ^{82}Br [Niesiobędzka i Czauderna, 1996; Tamari, 1998].

Techniką tą oznaczono selen we włosach [Tamari, 1998], wątrobie i krwi myszy [Niesiobędzka i Czauderna, 1996], materiale biologicznym [Foster i Sumar, 1995], produktach żywnościowych [Dermelj i wsp., 1996], mleku [Foster i Sumar, 1995], roślinach [Shtangeeva, 1994], tytoniu i dymie papierosowym, glebach [Schneider i Krivan, 1993] i osadach [Tamari, 1998]. Wykorzystując izotop $^{77\text{m}}\text{Se}$ oznaczano selen(IV) i (VI) w wodach rzecznych i morskich, ale przed oznaczeniem zagęszczano analit ze względu na bardzo niski poziom selenu w próbkach środowiskowych [Sakai i wsp., 1994].

6. Spektrometria mas (MS)

Spektrometria mas (MS) jest stosowana do oznaczeń różnych związków selenu po ich separacji na stałych sorbentach [Pyrzyńska, 1995]. Czulość metody można zwiększyć łącząc ICP-MS z techniką generacji wodorków (HG-ICP-MS) [Foster i Sumar, 1995; Pyrzyńska, 1995]. Generacja wodorku selenu może być techniką zagęszczania analitu dającą stężenia konieczne do analizy techniką ICP-MS [Palmer, 1998].

Oznaczenie selenu w próbkach biologicznych techniką ICP-MS ograniczają interferencje spektralne. Dodatek metanu (CH_4) do gazu nebulizującego lub alkoholu etylowego do roztworu próbki umożliwia oznaczenie selenu w próbkach biologicznych. Technika tą oznaczono selen także w roślinach i produktach żywnościowych [Feng i wsp., 1996], mleku [Foster i Sumar, 1995], wodzie [Palmer, 1998] i krwi [Mestek i wsp., 1997].

Spektrometria mas w połączeniu z chromatografią gazową (GC-MS) stosowana jest do oznaczeń śladowych ilości lotnych związków organicznych w złożonych matrycach naturalnych [Szczepaniak, 2004]. Czynnikiem limitującym oznaczenie jest dostępność odpowiednich odczynników chelatujących, tworzących trwałe połączenie z kwasem selenowym(IV). Najczęściej stosowanym reagentem w tej metodzie jest 4-nitro-o-fenylenodiamina [Palmer, 1998]. GC-MS zastosowano do oznaczeń selenu w roślinach, glebie i szlamie ściekowym [MacLeod i wsp., 1996].

Metoda spektrometrii mas w połączeniu z HPLC (HPLC-MS) lub elektroforezą kapilarną (CE-MS) jest też doskonałym narzędziem w analizie specjacyjnej selenu [Pyrzyńska, 1998; Michalkie, 2000].

7. Woltamperometria i polarografia

Do ilościowego oznaczenia selenu wykorzystuje się także techniki elektrochemiczne, tj. polarografię zmiennoprądową prostokątną [Duda i Masłowska, 1985], absorpcyjną woltamperometrię inwersyjną (AdSV) [Fijałek i wsp., 1998; Łozak i Fijałek, 1998; Elleouet i wsp., 1996], polarografię pulsową-różnicową (DPP) [Bryszewska i Pęczkowska, 1998; Campanella i wsp., 1989; Lan i Wong, 1994], impulsowo-różnicową woltamperometrię katodową (DPCSV) [Elleouet i wsp., 1996, Filipovic-Kovacevic i Kruhac, 1996; Seby i wsp., 1997, Bryszewska i Pęczkowska, 1998; Ferri i esp., 2001] i woltamperometrię cykliczną (CV) [Fijałek i wsp., 1998].

Spośród wymienionych technik DPP i DPCSV mają największe znaczenie w analizie ilościowej selenu [Bryszewska i Pęczkowska, 1998]. DPCSV jest najczulszą techniką wśród metod woltamperometrycznych, ale wymaga eliminacji interferencji ze strony miedzi i arsenu [Foster i Sumar, 1995]. W próbkach biologicznych selen jest oznaczany na poziomie stężeń nanogramowych, a zachodzące selektywnie reakcje elektrodowe umożliwiają oznaczanie tego pierwiastka na różnych stopniach utlenienia [Bryszewska i Pęczkowska, 1998].

Technika DPCSV pozwala na oznaczenie selenu całkowitego, Se(IV) oraz sumy Se(IV) i Se(VI) po przeprowadzonej uprzednio redukcji Se(VI) do Se(IV) [Kołacz i wsp., 1996].

Metodami woltamperometrycznymi oznaczano selen w próbkach biologicznych [Bryszewska i Pęczkowska, 1998], napojach i wodach pitnych [Duda i Masłowska, 1985], pozajelitowych preparatach wielominerałowych [Łozak i Fijałek, 1998], preparatach witaminowych [Fijałek i wsp., 1998], glebach [Seby i wsp., 1997], wodach naturalnych [Campanella i wsp., 1989; Elleouet i wsp., 1996] i tkankach ryb [Lan i Wong, 1994].

8. Metody chromatograficzne

8.1. Chromatografia gazowa (GC)

Metody chromatografii gazowej stosowane są do oznaczeń selenu(IV), selenu całkowitego oraz dimetyloselenku (DMSe) i dimetylodiselenku (DMDS₂) [Russeva i Havezov, 1996; Pyrzyńska, 1995; Pyrzyńska, 1996]. Oznaczenie selenu(IV) opiera się na reakcji tworzenia lotnych połączeń piazoselenoli w wyniku reakcji kwasu selenowego(IV) z 2-o-fenylodiaminami (4-nitro-o-fenylodiaminą, 1,2-diamino-3,5-dibromobenzenem, 2,3-diaminonaftalenem, 3-bromo-5-trifluoro-metylo-1,2-diaminobenzenem). Piazoselenol jest ekstrahowany do fazy organicznej (toluen, eter etylowy) i oznaczany chromatograficznie z użyciem detektora wychwyty elektronów (ECD) lub detektora płomieniowo-jonizacyjnego (FID). Procedura ekstrakcji jest bardzo często etapem zateżania próbki [Foster i Sumar, 1995; Russeva i Havezov, 1996].

Selen całkowity można oznaczyć po utlenieniu Se(II) i Se⁰, jak i po redukcji Se(VI) do Se(IV). Selen(IV) jest oznaczany bezpośrednio natomiast ilość Se(II), Se⁰ i Se(VI) jest obliczana z różnic pomiędzy ilością selenu całkowitego i selenu(IV) [Russeva i Havezov, 1996].

Wadą metod chromatograficznych jest to, że nie można oznaczyć jonu trimetyloselenowego (TMSe⁺) [Russeva i Havezov, 1996], zaletą natomiast to, że

interferencje są niewielkie z powodu selektywnej reakcji Se(IV) z o-diaminami przy pH = 2 i ekstrakcji powstającego połączenia do fazy organicznej. Możliwe źródło interferencji to reakcja diaminy z jonami Ni(II), Fe(III), Mo(VI) Sn(IV) i V(V) przy wyższym pH, które można wyeliminować stosując odczynniki maskujące, np. EDTA [Foster i Sumar, 1995].

Chromatografia gazowa bardzo często łączona jest z innymi technikami, np. GF-AAS, MS, MIP-AES, co pozwala poprawić wykrywalność i rozdział lotnych związków selenu: DMS_e i DMDS_e [Pyrzyńska, 1996].

8.2. Chromatografia cieczowa (LC)

Chromatografia cieczowa jest metodą stosowaną w analizie specjacyjnej selenu, ponieważ pozwala na oznaczenie lotnych i termicznie nietrwałych związków [Pyrzyńska, 1995; Russeva i Havezov, 1996]. Najczęściej stosowaną techniką jest HPLC z normalnym i odwróconym układem faz, możliwy jest wówczas rozdział i oznaczenie TMS_e⁺ oraz selenianów(IV) i (VI) [Pyrzyńska, 1995; Russeva i Havezov, 1996; Pyrzyńska, 1996].

Do detekcji rozdzielonych związków selenu stosuje się metody konduktometryczne, UV, fluorymetrię. Ze względu na interferencje pochodzące głównie od innych jonów, w roli detektora stosuje się seleno-specyficzne techniki analityczne, tj: ET-AAS, ICP-AES, ICP-MS [Pyrzyńska, 1996].

Do rozdziału selenometioniny, selenocysteiny oraz selenianów(IV) i (VI) wykorzystuje się kolumnę z wypełnieniem, którym jest anionowy wymienniacz, natomiast do detekcji rozdzielonych związków wykorzystuje się F-AAS lub ICP-AES [Foster i Sumar, 1995]. Technika HPLC używana jest także do separacji selenoaminokwasów od innych form selenu i innych aminokwasów pochodzących z próbek biologicznych [Pyrzyńska, 1996; Pyrzyńska, 1998].

8.3. Metody chromatografii cieczowo-gazowej (GLC)

Chromatografia cieczowo-gazowa bazuje również na reakcji kwasu selenowego(IV) z aromatycznymi diaminami w środowisku kwaśnym [Bryszewska i Pęczkowska, 1998; Palmer, 1998]. Wykorzystuje się również fakt dobrej rozpuszczalności piazoselenoli w rozpuszczalnikach organicznych. Szeroka gama odczynników do ekstrakcji i rozwijania chromatogramu stwarza możliwość optymalnego wyboru warunków rozdziału chromatograficznego [Bryszewska i Pęczkowska, 1998].

9. Metoda z zastosowaniem rekombinantów DNA

Alternatywną metodą określenia poziomu selenu jest zastosowanie rekombinantów DNA. Technika ta pozwala oznaczyć selen związany metabolicznie w postaci naturalnych selenoaminokwasów przez seleno-zależny enzym - peroksydazę glutationową żywych organizmów. Do oznaczeń wykorzystuje się komórki *E. coli* z modyfikowanymi plazmidami, w których ekspresja genu Lac'Z jest uzależniona i specyficznie kierowana przez kodon UGA, który odpowiada za wprowadzenie selenocysteiny w syntetyzowane białko. W takich komórkach aktywność β -galaktozydazy jest specyficznie zależna i proporcjonalna do stężenia niektórych prostych pochodnych selenu [Bryszewska i Pęczkowska, 1998].

CEL PRACY

Rośliny lecznicze - „zioła” są stosowane od setek lat na całym świecie. Mimo olbrzymiego tempa rozwoju nauki, a wraz nią opracowania wielu nowych leków syntetycznych, tradycyjnie stosowane rośliny lecznicze, w postaci ziół, mieszanek i tabletek ziołowych cieszą się niesłabnącą popularnością.

Wymagania jakościowe stawiane surowcom zielarskim zebrane są w Polskich Normach i Normach Zakładowych, zgodnie z wymogami Farmakopei Polskiej. Obejmują one parametry jakościowe cech organoleptycznych surowca, zawartość substancji biologicznie czynnych, zawartość domieszek oraz zanieczyszczeń w tym pozostałości nawozów sztucznych.

W warunkach naturalnych istnieje duże zróżnicowanie zawartości makro- i mikroelementów w zależności od gatunku, a nawet i odmian roślin. Może ono wynikać z zanieczyszczenia środowiska, właściwości i typu gleby, warunków agro-klimatycznych, jak również jest związane z określoną częścią rośliny oraz jej stadium rozwojowym.

Znajomość rozmieszczenia pierwiastków w różnych gatunkach roślin może okazać się przydatna w poszukiwaniu naturalnych źródeł mikro- i makroelementów potrzebnych organizmowi człowieka w codziennej diecie.

W związku z powyższym celem pracy jest określenie zakresu zawartości selenu i wybranych pierwiastków o znaczeniu biologicznym, takich jak miedź, mangan, cynk i żelazo, w dostępnych w Polsce roślinnych surowcach leczniczych, pochodzących od tych samych jak i różnych gatunków roślin.

Istotnym elementem pracy jest także określenie wpływu organu rośliny z którego surowiec został pozyskany na poziom oznaczanego pierwiastka, i w związku z tym identyfikacja surowców leczniczych oraz grup surowców bogatych w selen i wybrane mikroelementy. Ponadto ważnym zagadnieniem jest również znalezienie wzajemnych relacji pomiędzy zawartością analizowanych pierwiastków.

W celu pełnej interpretacji otrzymanych wyników posłużono się zaawansowanymi metodami analizy wielowymiarowej (analiza głównych składowych i analiza skupień) umożliwiającymi optymalizację uzyskanych danych oraz identyfikację niezależnych źródeł zmienności w zawartości selenu i pierwiastków metalicznych w badanych surowcach.

CZĘŚĆ
DOŚWIADCZALNA

1. Analizowany materiał

Analizowano roślinne surowce lecznicze pochodzące z firm: Herbapol: Bydgoszcz, Kraków, Lublin, Łódź; Kawon - Gostyń, Boguccy - Kraków, Flos - Mokrsko, Herbalux - Warszawa, Herbalux-Bis – Warszawa, Elanda - Rozprza. Zestawienie analizowanych surowców roślinnych przedstawiono w Tabeli 7.

2. Przygotowanie materiału do analizy

Przed oznaczaniem zawartości selenu i pierwiastków metalicznych surowce lecznicze rozdrabniano w moździerz porcelanowym przy użyciu pistla, do uzyskania konsystencji jednolitego proszku. Tak rozdrobniony materiał przechowywano w ciemnym miejscu w szczelnie zamkniętych plastikowych pojemnikach. W ten sposób zabezpieczono surowce przed niekorzystnym wpływem światła słonecznego i wilgoci.

3. Oznaczanie selenu

Badany materiał roślinny zmineralizowano za pomocą energii mikrofalowej, zredukowano selen z +6 na +4 stopień utlenienia przy użyciu kwasu solnego, a następnie oznaczono selen w mineralizatach metodą spektrofлуorymetryczną wykorzystując barwną reakcję selenu(IV) z 2,3-diaminonaftalenem (DAN). W wyniku tej reakcji tworzy się 4,5-benzopiazoselenol, dla którego wykonano pomiar spektrofлуorymetryczny przy fali wzbudzenia o długości 377 nm i emisji 522 nm.

3.1. Aparatura i odczynniki

Aparatura i sprzęt laboratoryjny

- ◆ mineralizator mikrofalowy UniClever™ BM-1z, Plazmatronika, Wrocław
- ◆ LUMINESCENCE spektrometr LS 50B, Perkin Elmer
- ◆ łaźnia wodna LW-14p, Cabrolab Electronic
- ◆ waga analityczna WAA 100/X/1, Radwag, Radom
- ◆ aparat kwarcowy do produkcji wody redestylowanej Destamat®, Heraeus Quarzglas

Tabela 7. Zestawienie analizowanych surowców roślinnych.

Lp.	Nazwa surowca	Numer surowca	Producent	Numer serii
Herba (zioła)				
1	<i>Herba Melissa</i>	He.1	Herbapol – Bydgoszcz	03 05 97
2	(ziele melisy)	He.2	Kawon – Gostyń	113 98
3	<i>Herba Millefolii</i> (ziele krwawnika)	He.3	Herbapol – Bydgoszcz	113 98
4		He.4	Kawon – Gostyń	02 04 97
5		He.5	Boguccy - Kraków	128 98
6	<i>Herba Absinthii</i> (ziele bylicy piołun)	He.6	Kawon – Gostyń	9000
7		He.7		06 01 98
8		He.8		273 06 98
9	<i>Herba Thymi</i> (ziele tymianku)	He.9	Herbapol - Kraków	675 97
10		He.10	Kawon – Gostyń	01 01 97
11		He.11		498 97
12		He.12	Boguccy - Kraków	750 97
13	<i>Herba Majoranae</i> (ziele majeranku)	He.13	Herbapol – Bydgoszcz	9000
14		He.14		02 03 97
15		He.15	Kawon – Gostyń	07 09 97
16	<i>Herba Serpylli</i> (ziele macierzanki)	He.16	Herbapol - Kraków	131 98
17		He.17	Kawon – Gostyń	01 03 97
18		He.18		300 06 98
19		He.19		751 97
20	<i>Herba Cnici</i> (ziele drapacza)	He.20	Kawon – Gostyń	1292001
21		He.21		1235 97
22		He.22		1609 97
23		He.23	Boguccy - Kraków	8099
24	<i>Herba Solidaginis</i> (ziele nawłoci)	He.24	Herbapol – Bydgoszcz	97 0298 02 28
25		He.25	Kawon – Gostyń	1205 97
26		He.26		1611 97
27	<i>Herba Anserinae</i> (ziele pięciornika gęsiego)	He.27	Flos – Makrsko	027 04 11 98
28		He.28		0560
29		He.29	Herbapol – Bydgoszcz	02 08 97

30	<i>Herba Origani</i>	He.30	Kawon – Gostyń	697 96
31	(ziele lebidki)	He.31		388 08 98
32	<i>Herba Artemisiae</i>	He.32	Kawon – Gostyń	1170 97
33	(ziele bylicy pospolitej)	He.33		1563 97
34	<i>Herba Meliloti</i>	He.34	Herbalux – Warszawa	02 01 98
35	(ziele nostryka)	He.35		500800
36	<i>Herba Equiseti</i>	He.36	Kawon – Gostyń	260 980
37	(ziele skrzypu)	He.37	Boguccy - Kraków	9000
Folium (liście)				
38	<i>Folium Melissa</i> (liść melisy)	Fo.1	Herbapol – Kraków	01 01 97
39		Fo.2	Kawon – Gostyń	652 97
40		Fo.3	Boguccy - Kraków	8000
41	<i>Folium Fragariae</i> (liść poziomki)	Fo.4	Kawon – Gostyń	12 12 97
42		Fo.5		1580 97
43		Fo.6	Herbalux Bis - Warszawa	631000
44	<i>Folium Menthae</i> (liść mięty)	Fo.7	Herbapol – Bydgoszcz	97 04 03
45		Fo.8		97 05 04
46		Fo.9	Kawon – Gostyń	759 97
47		Fo.10	Elanda – Rozprza	01012001
48	<i>Folium Rubi fruticosi</i> (liść jeżyny)	Fo.11	Herbapol – Lublin	01 11 96
49		Fo.12		01112000
50		Fo.13	Kawon – Gostyń	10 02 97
51		Fo.14		1305 97
52	<i>Folium Farfarae</i> (liść podbiału)	Fo.15	Kawon – Gostyń	12 03 97
53		Fo.16		1378 97
54		Fo.17		1613 97
55		Fo.18	Flos - Mokrsko	2063
56	<i>Folium Salviae</i> (liść szalwii)	Fo.19	Herbapol – Kraków	10 05 97
57		Fo.20	Herbapol – Bydgoszcz	02 05 97
58		Fo.21	Kawon – Gostyń	1103 97
59		Fo.22		13452000

60	<i>Folium Rubi idaei</i> (liść maliny)	Fo.23	Herbapol – Bydgoszcz	97 07 10
61		Fo.24	Kawon – Gostyń	117397
62		Fo.25		1585 97
63		Fo.26	Herbapol – Lublin	01 02 98 B
64	<i>Folium Uvae ursi</i> (liść mącznicy)	Fo.27	Herbalux Bis - Warszawa	77 10 98
65		Fo.28	Kawon – Gostyń	11912000
66	<i>Folium Majoranae</i> (liść majeranku)	Fo.29	Herbapol - Łódź	0101
Flos (kwiaty)				
67	<i>Flos Millefolii</i> (kwiat krwawnika)	Fl.1	Herbapol – Lublin	01 04 97
68		Fl.2		02 05 98B
69		Fl.3	Kawon – Gostyń	1285 96
70		Fl.4		1550 97
71	<i>Flos Lavendulae</i> (kwiat lawendy)	Fl.5	Kraków – Boguccy	9069
72		Fl.6		9099
73		Fl.7	Herbapol – Kraków	01 08 97
74		Fl.8	Kawon – Gostyń	11 01 98
75	<i>Flos Cyani</i> (kwiat bławatka)	Fl.9	Herbapol – Bydgoszcz	02 05 97
76		Fl.10	Herbapol - Lublin	01 04 97
77		Fl.11		01 01 97B
78		Fl.12		01112000
79	<i>Flos Calendulae</i> (kwiat nagietka)	Fl.13	Herbapol – Bydgoszcz	03 04 97
80		Fl.14		02 04 97
81		Fl.15	Herbapol - Lublin	02 12 98B
82		Fl.16	Kawon - Gostyń	1012 98
83		Fl.17		01420001
84	<i>Flos Lamii albi</i> (kwiat jasnoty)	Fl.18	Herbapol - Lublin	01 06 97
85		Fl.19		01 01 98
86		Fl.20		01 10 98
87	<i>Flos Chamomillae</i> (kwiat rumianku)	Fl.21	Herbapol – Bydgoszcz	04 08 97
88		Fl.22	Kawon - Gostyń	268 05 98
89		Fl.23		102 98

90	<i>Flos Helichrysi</i> (kwiat kocanki)	Fl.24	Herbapol – Bydgoszcz	97 04 07
91		Fl.25	Kawon - Gostyń	1592 97
92		Fl.26	Flos - Mokrsko	21332
93	<i>Flos Crataegi</i> (kwiat głogu)	Fl.27	Herbapol – Bydgoszcz	02 04 97
94		Fl.28	Kawon - Gostyń	754 97
95		Fl.29		1012001
96	<i>Flos Arnicae</i> (kwiat arniki)	Fl.30	Kawon - Gostyń	1132 97
97		Fl.31		1471 97
98	<i>Flos Hippocastani</i> (kwiat kasztanowca)	Fl.32	Herbapol - Lublin	01 10 98B
Radix (korzenie)				
99	<i>Radix Agelicae</i> (korzeń arcydzięgla)	Ra.1	Herbapol – Lublin	01 04 97
100		Ra.2	Herbapol – Bydgoszcz	01 03 97
101		Ra.3	Kawon – Gostyń	773 97
102	<i>Radix Bardanae</i> (korzeń łopianu)	Ra.4	Kawon – Gostyń	280 06 98
103		Ra.5		012 98
104		Ra.6	Herbapol – Bydgoszcz	01 4 97
105	<i>Radix Taraxaci</i> (korzeń mniszka)	Ra.7	Herbapol – Bydgoszcz	02 05 97
106		Ra.8	Herbapol – Lublin	01 05 97
107		Ra.9	Kawon – Gostyń	104 01 99
108	<i>Radix Levistici</i> (korzeń lubczyka)	Ra.10	Kawon – Gostyń	234 97
109		Ra.11		295 97
110		Ra.12		077 01 98
111	<i>Radix Inulae</i> (korzeń omanu)	Ra.13	Herbapol – Lublin	01 03 97
112		Ra.14	Kawon – Gostyń	663 97
113		Ra.15	Herbalux - Warszawa	130900
114	<i>Radix Cichorii</i> (korzeń cykorii podróznika)	Ra.16	Kawon – Gostyń	275 97
115		Ra.17		394 97
116		Ra.18		067 01 99
117	<i>Radix Tormentillae</i> (korzeń pięciornika kurze ziele)	Ra.19	Herbapol – Lublin	02 01 97
118		Ra.20		01 03 97
119		Ra.21	Kawon – Gostyń	16 01 97

120	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	Ra.22	Herbalux - Warszawa	03 199
121	(korzeń lukrecji)	Ra.23	Herbapol – Lublin	0209200
Frustus, semen (owoce i nasiona)				
122	<i>Fructus Anisi</i> (owoc anyżu)	Fr.1	Kawon – Gostyń	305 06 98
123		Fr.2		340 07 98
124		Fr.3		0032001
125	<i>Fructus Carvi</i> (owoc kminku)	Fr.4	Kawon – Gostyń	398 08 98
126		Fr.5		287 05 98
127		Fr.6		165 01 99
128		Fr.7	Herbalux - Warszawa	250201
129	<i>Fructus Rosae</i> (owoc dzikiej róży)	Fr.8	Kawon – Gostyń	265 05 98
130		Fr.9		476 97
131		Fr.10		014 98
132		Fr.11	Herbalux - Warszawa	510101
133	<i>Fructus Foeniculi</i> (owoc kopru)	Fr.12	Kawon – Gostyń	480 09 98
134		Fr.13	Herbapol – Kraków	01 03 97
135		Fr.14		010397
136		Fr.15	Boguccy - Kraków	9000
137	<i>Fructus Coriandri</i> (owoc kolendry)	Fr.16	Kawon – Gostyń	351 07 98
138		Fr.17		289 05 98
139		Fr.18		693 97
140	<i>Fructus Crataegi</i> (owoc głogu)	Fr.19	Herbapol – Bydgoszcz	07 05 97
141		Fr.20	Herbapol – Lublin	01 04 97
142		Fr.21	Kawon – Gostyń	762 97
143		Fr.22	Herbalux Bis - Warszawa	940101
144	<i>Fructus Sorbi</i> (owoc jarzębiny)	Fr.23	Kawon – Gostyń	330 07 98
145		Fr.24	Herbapol – Lublin	01 02 97
146		Fr.25	Herbalux Bis - Warszawa	460101
147	<i>Lini Semen</i>	Se.26	Herbapol – Lublin	06 01 99
148	(nasiona lnu)	Se.27	Elanda -Rozprza	0202200

Odczynniki

- ◆ kwas azotowy(V) 65%, Selectipur™, Merck
- ◆ kwas solny 36,5-38%, Instra-Analyzed, Baker
- ◆ 0,1 mol/l roztwór HCl

Odmierzano cylindrem 8,6 ml 36% HCl i rozcieńczano wodą redestylowaną do objętości 1 l.

- ◆ 25% roztwór amoniaku $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ cz.d.a., POCh, Gliwice
- ◆ cykloheksan cz.d.a., LAB-SCAN, Dublin, Irlandia
- ◆ 2,3-diaminonaftalenu (DAN), Sigma
- ◆ 0,1% roztwór 2,3-diaminonaftalenu (DAN)

Odważono na wadze analitycznej 0,05 g DAN, przeniesiono do kolby miarowej o poj. 50 ml, uzupełniono 0,1 mol/l HCl i dokładnie wymieszano. Następnie ekstrahowano 10 ml cykloheksanu w celu wyeliminowania zanieczyszczeń. Roztwór DAN przygotowywano przed każdym oznaczeniem. Roztwór ten jest nietrwały, ciemnieje pod wpływem tlenu i światła w ciągu kilku godzin.

- ◆ roztwór wersenianu disodu i chlorowodoru hydroksyloaminy, EDTA + $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, Przedsiębiorstwo Chemiczne "Odczynniki" Lublin

Odważono 3,7 g $\text{EDTANa}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ i 12,5 g $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$, przeniesiono do kolby miarowej o poj. 500 ml, uzupełniono wodą redestylowaną do objętości 500 ml i dokładnie wymieszano.

- ◆ 80% roztwór kwasu mrówkowego HCOOH cz.d.a., POCh Gliwice
- ◆ 50% roztwór kwasu mrówkowego HCOOH

Odmierzono cylindrem 104,2 ml 80% HCOOH cz.d.a., wymieszano z około 80 ml wody redestylowanej, a następnie uzupełniono wodą redestylowaną do 200 ml i ponownie wymieszano.

- ◆ mianowany, wzorcowy roztwór selenu zawierający 1 mg/ml ditlenku selenu w 0,5 mol/kwasie azotowym, Merck

3.2. Mineralizacja roślinnych surowców leczniczych

Na wadze analitycznej odważono około 2 g surowca roślinnego z dokładnością do 0,0001 g, a następnie przeniesiono go do teflonowego naczynka reakcyjnego zawierającego 7 ml wody redestylowanej i 7 ml stężonego kwasu azotowego(V). Mineralizację przeprowadzano w czterech krokach z odpowiednio dobranym czasem i mocą magnetronu.

Warunki mineralizacji zestawiono w Tabeli 8. Po zakończonej mineralizacji mineralizat przeniesiono do kolbki miarowej o poj. 25 ml i rozcieńczono wodą redestylowaną do objętości 25 ml.

W przypadku liści podbiału odważono 0,2 - 0,5 g surowca, a następnie mineralizowano w naczynku teflonowym zawierającym wodę redestylowaną i stężony kwas azotowy(V). Dalej oznaczenia przeprowadzano tak, jak pozostałych surowców.

Tabela 8. Warunki mineralizacji mikrofalowej analizowanych surowców.

Etap	Czas [min]		Moc generatora mikrofalowego [%]	Temperatura min-max [°C]	Ciśnienie [atm]
	ziola, liście, korzenie, owoce i nasiona	kwiaty, liść podbiału			
I	6	5	50	150 – 180	17 – 25
II	3	5	85	150 – 180	32 – 35
III	3	5	100	180 – 200	38 – 45
IV	10	10	0	-	-

3.3. Spektrofluorymetryczne oznaczanie selenu

Zmineralizowane próbki przelano do zlewki o poj. 100 ml i przeprowadzano redukcję selenu(VI) do (IV), dodając do mineralizatów po 3 ml 36% kwasu solnego i ogrzewając delikatnie w zlewkach przykrytych szkiełkami zegarkowymi na palniku gazowym przez 20 min. Ogrzewanie z HCl miało również na celu pozbycie się tlenków azotu i wyklarowanie roztworu. Następnie, po ochłodzeniu roztworu do temperatury pokojowej, dodano 5 ml 50% kwasu mrówkowego i 5 ml roztworu wersenianu disodu i chlorowodoru hydroksyloaminy. EDTA ma za zadanie związanie jonów metali (Pb, Fe, Cu), które mogą zmieniać stopień utlenienia selenu a także reagować z DAN. W tak przygotowanych próbkach pH doprowadzono do 2,5 przy pomocy 25% roztworu amoniaku, ponieważ tylko w takim środowisku zachodzi reakcja kwasu selenowego(IV) z DAN. Takie pH zapewnia również całkowitą ekstrakcję piazoselenolu do warstwy organicznej, a także chroni przed rozkładem 2,3-diaminonafalen. Następnie do zlewki dodano po 2 ml 0,1% DAN i ogrzewano na łaźni wodnej przy temp. 60°C przez 20 min. Roztwory ochłodzono do temperatury pokojowej, przeniesiono ilościowo do rozdzielaczy o poj. 100 ml i dodano po 5 ml cykloheksanu.

Przeprowadzono ekstrakcję piazoselenolu przez wytrząsanie w ciągu 1 min. Po zakończeniu ekstrakcji, rozdzielacze pozostawiono na 2 min w celu rozdzielania się warstw. Warstwę organiczną oddzielono od fazy wodnej i przemyto 25 ml roztworu HCl o stężeniu 0,1 mol/l. Po rozdzieleniu się warstw wykonano pomiary spektrofluorymetryczne warstwy cykloheksanowej przy fali wzbudzenia o długości 377 nm i emisji 522 nm.

3.4. Przygotowanie roztworów i krzywej wzorcowej dla selenu

- ◆ roztwór wzorcowy A selenu zawierający 1 mg Se/ml
- ◆ roztwór roboczy B selenu

Pobrano pipetą 1 ml roztworu wzorcowego A i przeniesiono do kolby miarowej o poj. 100 ml. Następnie rozcieńczono 0,1 mol/l HCl i dobrze wymieszano. Otrzymany roztwór zawiera 10 µg Se/ml.

- ◆ roztwór roboczy C selenu

Pobrano pipetą 1 ml roztworu roboczego B i przeniesiono do kolby miarowej o poj. 100 ml, rozcieńczono 0,1 mol/l HCl i wymieszano. Roztwór zawiera 100 ng Se/ml.

Do 7 kolbek miarowych o poj. 25 ml dodano kolejno następujące objętości roztworu roboczego C selenu: 0; 0,25; 0,5; 1,0; 0,75; 1,5; 2,0 ml i uzupełniono wodą redestylowaną do objętości 25 ml. Następnie przelano do zlewki o poj. 100 ml, dodano 5 ml 50% kwasu mrówkowego oraz 5 ml roztworu wersenianu disodu i chlorowodoru hydroksyloaminy. Doprowadzono pH roztworów do wartości 2,5 przy użyciu 25% amoniaku. Dodano 2 ml 0,1% DAN i ogrzewano na łaźni wodnej 20 min w temp. 60°C. Po ochłodzeniu do temperatury pokojowej roztwory przeniesiono do rozdzielacza, dodano 5 ml cykloheksanu i przeprowadzono ekstrakcję wytrząsając zawartość rozdzielacza przez minutę. Warstwę organiczną oddzielono od warstwy wodnej, przemyto 25 ml roztworu HCl o stężeniu 0,1 mol/l i wykonano pomiary spektrofluorymetryczne przy długości fali wzbudzenia 377 nm i emisji 522 nm. Intensywność fluorescencji dla poszczególnych krzywych wzorcowych, zakres i liniowość krzywej wzorcowej oraz ocenę statystyczną przedstawiono w Tabelach 9 i 10.

Tabela 9. Intensywność fluorescencji dla poszczególnych krzywych wzorcowych oraz ocena statystyczna.

Stężenie selenu ng/25ml	Intensywność fluorescencji									Parametry statystyczne				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	\bar{x}	S	S _r	W _z (%)	$\bar{x} \pm t_{95}S_x$
0	39,44	39,27	36,77	26,93	36,77	34,90	33,77	39,80	38,09	36,19	4,04	0,11	11,16	36,19 ± 3,10
25	71,08	67,73	61,44	60,31	66,22	63,06	65,80	69,77	58,10	64,83	4,40	0,07	6,79	64,83 ± 3,38
50	84,41	87,10	85,11	83,66	86,13	89,34	84,81	75,92	80,08	84,06	3,96	0,05	4,71	84,06 ± 3,04
75	103,4	106,0	106,7	103,4	108,8	103,9	107,3	92,86	101,4	103,75	4,69	0,04	4,52	103,75 ± 3,60
100	126,9	126,0	125,1	128,6	130,0	129,0	123,0	114,2	128,6	125,71	4,84	0,04	3,85	125,71 ± 3,28
150	163,7	170,0	165,9	169,1	169,3	178,6	172,5	152,2	160,9	166,91	7,51	0,04	4,50	166,91 ± 5,77
200	204,7	207,1	208,6	216,3	207,1	217,3	203,2	-	-	209,18	5,50	0,03	2,63	209,18 ± 4,22

Tabela 10. Zakres i liniowość krzywej wzorcowej.

Zakres stężeń ng Se/ 25 ml	Parametry statystyczne krzywej o wzorze $y = a + bx$								
	a	A ± Δa	S _a	b	B ± Δb	S _b	S _{xy}	R	R (%)
0 ÷ 200	40,28	40,28 ± 3,81	1,55	847,72	847,72 ± 35,33	14,44	2,49	0,9993	99,86

4. Oznaczanie miedzi, manganu, cynku, i żelaza

W badany materiale roślinny po mineralizacji mikrofalowej oznaczono metale metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej, wykorzystując atomizację płomieniową (F-AAS).

4.1. Aparatura i odczynniki

Aparatura i sprzęt laboratoryjny

- mineralizator mikrofalowy UniClever™ BM-1z, Plazmatronika, Wrocław
- waga analityczna WAA 100/X/1, Radwag, Radom
- aparat kwarcowy do produkcji wody redestylowanej Destamat®, Heraeus Quarzglas
- spektrometr absorpcji atomowej SpectrAA-250 Plus, Varian, Australia

Odczynniki

- kwas azotowy(V) 65%, Selectipur™, Merck
- wzorcowe roztwory zawierające 1 mg miedzi, manganu, cynku i żelaza w 1 ml roztworu, Merck

4.2. Mineralizacja roślinnych surowców leczniczych

Na wadze analitycznej odważono około 1 g surowca roślinnego z dokładnością do 0,0001 g, a następnie przeniesiono go do teflonowego naczynka reakcyjnego zawierającego 5 ml wody redestylowanej i 5 ml stężonego kwasu azotowego(V). Mineralizację przeprowadzano w czterech krokach z odpowiednio dobranym czasem i mocą generatora mikrofal. Warunki mineralizacji zestawiono w Tabeli 11. Po zakończonej mineralizacji mineralizat przeniesiono do kolbki miarowej o poj. 25 ml, rozcieńczono wodą redestylowaną do objętości 25 ml i pozostawiono do analizy.

Tabela 11. Warunki mineralizacji mikrofalowej analizowanych surowców.

Etap	Czas [min]	Moc generatora mikrofalowego [%]	Temperatura min-max [°C]	Ciśnienie [atm]
I	5	50	150 – 180	17 – 25
II	5	85	150 – 180	32 – 35
III	5	100	180 – 200	38 – 45
IV	10	0	-	-

4.3. Parametry oznaczania pierwiastków metalicznych metodą F-AAS

Do badań użyto palnik trójszczelinowy o długości 10 cm, ustawiony na wysokości 13 mm. Każde oznaczenie prowadzono przez 2 s. W badaniach zastosowano lampy z katodą wnątkową, deuterową korekcję tła oraz płomień utleniający. Dokładne warunki oznaczenia metali zestawiono w Tabeli 12.

Tabela 12. Parametry oznaczania metali metodą F-AAS.

Parametr	Pierwiastek			
	Cu	Mn	Zn	Fe
Analityczna długość fali [nm]	324,8	279,5	213,9	248,3
Szerokość szczeliny [nm]	0,5	0,2	1,0	0,2
Napięcie fotopowielacza [V]	254,6	342,1	320,2	414,0
Przepływ masowy gazów [l/min]				
powietrze	13,8	13,0	13,6	12,2
acetylen	2,0	2,2	1,5	2,0

4.4. Przygotowanie roztworów i krzywych wzorcowych metali

4.4.1. Roztwory i krzywa wzorcowa dla miedzi

- roztwór wzorcowy A miedzi o stężeniu 1 mg/ml
- roztwór roboczy B miedzi

Pipetą pobrano 10 ml roztworu wzorcowego A i przeniesiono do kolby miarowej o poj. 100 ml, po czym rozcieńczono wodą redetylowaną i dokładnie wymieszano. Otrzymany roztwór zawierał 100 µg Cu w 1 ml.

Do 6 kolbek miarowych o poj. 50 ml dodano po 30 ml wody redetylowanej, 5 ml stężonego 65 % kwasu azotowego(V) oraz kolejno następujące objętości roztworu roboczego B miedzi (100 µg/ml): 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 ml. Roztwory rozcieńczono do objętości 50 ml i dokładnie wymieszano. W ten sposób otrzymano roztwory wzorcowe o stężeniach: 0; 1; 2; 3; 4; 5 µg Cu/ml.

4.4.2. Roztwory i krzywa wzorcowa dla manganu

- roztwór wzorcowy A manganu o stężeniu 1 mg/ml
- roztwór roboczy B manganu

Pipetą pobrano 10 ml roztworu wzorcowego A i przeniesiono do kolby miarowej o poj. 100 ml, po czym rozcieńczono wodą redetylowaną i dokładnie wymieszano. Otrzymany roztwór zawierał 100 µg Mn w 1 ml.

Do 6 kolbek miarowych o poj. 50 ml dodano po 30 ml wody redetylowanej, 5 ml stężonego 65 % kwasu azotowego(V) oraz kolejno następujące objętości roztworu roboczego B manganu (100 µg/ml): 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 ml. Roztwory rozcieńczono do objętości 50 ml i dokładnie wymieszano. W ten sposób otrzymano roztwory wzorcowe o stężeniach: 0; 1; 2; 3; 4; 5 µg Mn/ml.

4.4.3 Roztwory i krzywa wzorcowa dla cynku

- roztwór mianowany wzorcowy A cynku o stężeniu 1 mg/ml
- roztwór roboczy B cynku

Pipetą pobrano 1 ml roztworu wzorcowego A i przeniesiono do kolby miarowej o poj. 100 ml, po czym rozcieńczono wodą redetylowaną i dokładnie wymieszano. Otrzymany roztwór zawierał 10 µg Zn w 1 ml.

Do 6 kolbek miarowych o poj. 50 ml dodano po 30 ml wody redetylowanej, 5 ml stężonego 65 % kwasu azotowego(V) oraz kolejno następujące objętości roztworu roboczego B cynku (10 µg/ml): 0; 0,5; 1,0; 4,0; 6,0; 8,0 ml. Roztwory rozcieńczono do objętości 50 ml i

dokładnie wymieszano. W ten sposób otrzymano roztwory wzorcowe o stężeniach: 0; 0,1; 0,2; 0,8; 1,2; 1,6 $\mu\text{g Zn/ml}$.

4.4.4. Roztwory i krzywa wzorcowa dla żelaza

- roztwór wzorcowy A żelaza o stężeniu 1 mg/ml
- roztwór roboczy B żelaza

Pipetą pobrano 10 ml roztworu wzorcowego A i przeniesiono do kolby miarowej o poj. 100 ml, po czym rozcieńczono wodą redestylowaną i dokładnie wymieszano. Otrzymany roztwór zawierał 100 $\mu\text{g Fe}$ w 1 ml.

Do 6 kolbek miarowych o poj. 50 ml dodano po 30 ml wody redestylowanej, 5 ml stężonego 65 % kwasu azotowego(V) oraz kolejno następujące objętości roztworu roboczego B żelaza (100 $\mu\text{g/ml}$): 0; 2,0; 3,0; 4,0; 7,0; 10,0 ml. Roztwory rozcieńczono do objętości 50 ml i dokładnie wymieszano. W ten sposób otrzymano roztwory wzorcowe o stężeniach: 0; 1,0; 1,5; 2,0; 3,5; 5,0 $\mu\text{g Fe/ml}$.

Zawartość pierwiastków w roślinnych surowcach leczniczych obliczono korzystając ze wzoru:

$$C = a \times 25 / \text{masa odważki}$$

C - stężenie pierwiastka w $\mu\text{g/g}$ suchej masy,

a - stężenie pierwiastka w $\mu\text{g/ml}$ roztworu zmierzone przy użyciu programu Varian SpectrAA 250 Plus System Report współpracującego ze spektrometrem AAS/AES,

25 - objętość mineralizatu w ml.

5. Precyzja i odzysk stosowanych metod

Precyzję i odzysk użytej do oznaczeń selenu metody sprawdzono przy użyciu materiału referencyjnego Virginia Tobacco Leaves (CTA-VTL-2) firmy LGC Promochem.

Na wadze analitycznej odważono około 1 g materiału referencyjnego z dokładnością do 0,0001 g, a następnie przeniesiono go do teflonowego naczynka reakcyjnego, zawierającego 7 ml wody redestylowanej oraz 7 ml stężonego kwasu azotowego(V).

Mineralizację materiału przeprowadzono w warunkach przedstawionych w Tabeli 13. Po mineralizacji mineralizat przeniesiono do kolbki miarowej o poj. 25 ml i rozcieńczono

wodą redestylowaną do objętości 25 ml. Spektrofluorymetryczne oznaczanie selenu wykonano według procedury opisanej w punkcie 3.3.

Precyzję i odzysk użytej do oznaczeń metali metody F-AAS określono przy użyciu materiału referencyjnego Tea Leaves (INCT-TL-1) firmy LGC Promochem (dla miedzi i cynku) oraz Tomato Leaves (1573a) firmy NIST (dla manganu i żelaza).

Na wadze analitycznej odważono około 0,5 lub 1 g materiału referencyjnego z dokładnością do 0,0001 g, a następnie przeniesiono go do teflonowego naczynka reakcyjnego, zawierającego 5 ml wody redestylowanej oraz 5 ml stężonego kwasu azotowego(V). Mineralizację materiału przeprowadzono w takich samych warunkach jak surowców roślinnych (Tabela 7). Po zakończonej mineralizacji mineralizat przeniesiono do kolbki miarowej o poj. 25 ml, rozcieńczono wodą redestylowaną do objętości 25 ml i pozostawiono do analizy.

Wyniki zawartości selenu w materiale referencyjnym Virginia Tobacco Leaves oraz metali oznaczonych w Tea Leaves (miedź, cynk) i Tomato Leaves (mangan i żelazo) w porównaniu z wartościami deklarowanymi przez producenta zestawiono w Tabeli 13.

Tabela 13. Stężenia selenu, miedzi, manganu, cynku i żelaza w materiale referencyjnym.

Pierwiastek	Odważki [g]	Zawartość pierwiastka oznaczona [µg/g]	Zawartość pierwiastka deklarowana [µg/g]	Odzysk [%]	Średnia zawartość pierwiastka [µg/g]	Średni odzysk [%]
Se*	0,9873	148,70	188	79,09	141,72	75,38
	0,8345	143,20		76,17		
	0,9582	154,10		81,97		
	0,9684	133,6		71,09		
	0,9856	137,20		72,97		
	0,9739	137,75		73,27		
	0,9598	137,45		73,11		
Cu	0,9512	23,65	20,4 ± 1,5	115,93	22,68	111,18
	0,9649	20,73		101,62		
	0,9975	23,14		113,43		
Mn	0,5159	285,50	246,0 ± 8,0	116,06	288,35	117,22
	0,5360	294,10		119,55		
	0,5312	285,45		116,04		
Zn	0,9512	37,32	34,7 ± 2,7	107,55	34,48	99,36
	0,9649	31,87		91,84		
	0,9975	34,25		98,70		
Fe	0,5159	373,57	368,0 ± 7,0	101,51	377,29	102,52
	0,5360	383,49		104,21		
	0,5312	374,81		101,85		

* zawartość selenu wyrażona w ng/g s.m. surowca

**WYNIKI
I
DYSKUSJA**

1. Charakterystyka analizowanych surowców

Materiał do badań składał się z 148 roślinnych surowców leczniczych, takich jak: zioła, liście, kwiaty, korzenie oraz owoce i nasiona, pochodzących od 44 gatunków roślin.

Największą ilość surowców stanowiły produkty firm: Kawon - Gostyń, Herbapol - Lublin i Herbapol - Bydgoszcz. Liczną grupę obejmowały także surowce pochodzące z zakładu zielarskiego Boguccy - Kraków, Herbapol - Kraków oraz Herbalux - Warszawa. Reszta produktów pochodziła m.in. z firmy Herbalux Bis - Warszawa i Flos - Mokrsko. Szczegółowe zestawienie liczby surowców z wyszczególnieniem zakładów zielarskich przedstawia Tabela 14.

Tabela 14. Zestawienie próbek analizowanych surowców leczniczych z poszczególnych zakładów zielarskich.

Producent	Liczba surowców					Ogółem
	Zioła	Liście	Kwiaty	Korzenie	Owoce i nasiona	
Kawon - Gostyń	21	14	12	12	15	74
Herbapol - Lublin	-	3	10	6	3	22
Herbapol - Bydgoszcz	6	4	6	3	1	20
Boguccy - Kraków	4	1	2	-	1	9
Herbapol - Kraków	2	2	1	-	2	7
Herbalux - Warszawa	2	-	-	2	2	6
Herbalux Bis - Warszawa	-	2	-	-	2	4
Flos - Mokrsko	2	1	1	-	-	4
Elanda - Rozprza	-	1	-	-	1	2
Herbapol - Łódź	-	1	-	-	-	1
Ogółem	37	29	32	23	27	148

Najliczniejszą grupę badanych surowców stanowiły zioła. Analizie poddano 37 próbek, pochodzących w sumie od 13 gatunków roślin.

Drugą pod względem liczebności grupą surowców były kwiaty. Obejmowała ona 31 próbek z 10 gatunków roślin. Liście reprezentowało 29 surowców, natomiast korzenie oraz owoce i nasiona składały się odpowiednio z 23 i 27 surowców.

Tabela 15. Zawartość selenu w analizowanych surowcach roślinnych.

Lp	Nazwa surowca	Numer surowca	Seria pomiarów			Zakres zawartości selenu [ng/g]	Wartość średnia ± odchylenie standardowe
			A	B	C		
Herba (zioła)							
1	<i>Herba Melissae</i> (ziele melisy)	He.1	22,38	19,12	16,37	16,37 ÷ 22,38	19,29 ± 3,01
2		He.2	29,85	26,09	24,08	24,08 ÷ 29,85	26,67 ± 2,93
3	<i>Herba Millefolii</i> (ziele krwawnika)	He.3	23,70	26,27	24,15	23,70 ÷ 26,27	24,71 ± 1,37
4		He.4					17,05*
5		He.5	10,28	8,99	8,94	8,94 ÷ 10,28	9,40 ± 0,76
6	<i>Herba Absinthii</i> (ziele bylicy piołun)	He.6	3,22	3,00	2,10	2,10 ÷ 3,22	2,77 ± 0,59
7		He.7	21,51	12,97	20,84	12,97 ÷ 21,51	18,44 ± 4,75
8		He.8	17,73	12,92	11,46	11,46 ÷ 17,73	14,04 ± 3,28
9	<i>Herba Thymi</i> (ziele tymianku)	He.9	27,57	29,28	23,39	23,39 ÷ 29,28	26,75 ± 3,03
10		He.10	20,87	29,32	26,89	20,87 ÷ 29,32	25,69 ± 4,35
11		He.11	29,76	29,56	33,07	29,56 ÷ 33,07	30,80 ± 1,97
12		He.12	23,61	23,27	25,67	23,27 ÷ 25,67	24,18 ± 1,29
13	<i>Herba Majoranae</i> (ziele majeranku)	He.13	61,32	71,72	56,07	56,07 ÷ 71,72	63,04 ± 7,97
14		He.14	85,29	81,28	91,92	81,28 ÷ 91,92	86,16 ± 5,37
15		He.15	3,31	5,23	2,91	2,91 ÷ 5,23	3,82 ± 1,24

16	<i>Herba Serpylli</i> (ziele macierzanki)	He.16	41,75	41,42	51,57	41,42 ÷ 51,57	44,91 ± 5,77
17		He.17	38,99	41,98	37,22	37,22 ÷ 41,98	39,40 ± 2,40
18		He.18	21,90	18,47	17,90	17,90 ÷ 21,90	19,42 ± 2,16
19		He.19	51,87	46,79	44,91	44,91 51,87	47,85 ± 3,60
20	<i>Herba Cnici</i> (ziele drapacza)	He.20	23,63	18,62	28,46	18,62 ÷ 28,46	23,57 ± 4,92
21		He.21	32,04	28,71	38,69	28,71 ÷ 38,69	33,15 ± 5,08
22		He.22	14,48	10,41	8,68	8,68 ÷ 14,48	11,19 ± 2,98
23		He.23	6,07	8,47	7,50	6,07 ÷ 8,47	7,37 ± 1,20
24	<i>Herba Solidaginis</i> (ziele nawłoci)	He.24	9,07	12,78	9,66	9,07 ÷ 12,78	10,50 ± 1,99
25		He.25	17,43	27,35	19,07	17,43 ÷ 27,35	21,28 ± 5,32
26		He.26	9,21	10,58	5,61	5,61 ÷ 10,58	8,47 ± 2,57
27	<i>Herba Anserinae</i> (ziele pięciornika gęsiego)	He.27	18,17	12,95	15,73	12,95 ÷ 18,17	15,62 ± 2,61
28		He.28	14,70	14,86	15,35	14,70 ÷ 15,35	14,97 ± 0,33
29		He.29	14,93	12,53	9,25	9,25 ÷ 14,93	12,24 ± 2,85
30	<i>Herba Origani</i> (ziele lebidki)	He.30	22,32	18,73	15,74	15,74 ÷ 22,32	18,93 ± 3,29
31		He.31	20,16	24,46	19,92	19,92 ÷ 24,46	21,51 ± 2,55
32	<i>Herba Artemisiae</i> (ziele bylicy pospolitej)	He.32	12,78	10,74	12,99	10,74 ÷ 12,99	12,17 ± 1,24
33		He.33	9,04	9,37	10,36	9,04 ÷ 10,36	9,59 ± 0,69
34	<i>Herba Meliloti</i> (ziele nostrzyka)	He.34	20,15	22,64	19,86	19,86 ÷ 22,64	20,88 ± 1,52
35		He.35	9,40	18,20	14,34	9,40 ÷ 18,20	13,95 ± 4,37

36	<i>Herba Equiseti</i> (ziele skrzypu)	He.36	122,3	133,6	144,9	122,4 ÷ 144,9	133,7 ± 11,28
37		He.37	20,61	18,04	21,06	18,04 ÷ 21,06	19,90 ± 1,62
Folium (liście)							
38	<i>Folium Melissa</i> (liść melisy)	Fo.1	5,26	9,92	10,18	5,26 ÷ 10,18	8,45 ± 2,77
39		Fo.2	12,96	18,41	20,53	12,96 ÷ 20,53	17,30 ± 3,90
40		Fo.3	26,71	20,01	16,40	16,4 ÷ 26,71	21,04 ± 5,23
41	<i>Folium Fragariae</i> (liść poziomki)	Fo.4	21,31	16,06	16,26	16,06 ÷ 21,31	17,88 ± 2,97
42		Fo.5	10,99	12,13	15,98	10,99 ÷ 15,98	13,03 ± 2,62
43		Fo.6					15,45*
44	<i>Folium Menthae</i> (liść mięty)	Fo.7	8,51	3,93	18,10	3,93 ÷ 18,10	10,18 ± 7,23
45		Fo.8	40,54	41,11	44,33	40,54 ÷ 44,33	41,99 ± 2,04
46		Fo.9	15,34	13,77	17,58	13,77 ÷ 17,58	15,56 ± 1,91
47		Fo.10	18,71	15,64	8,3	8,30 ÷ 18,71	14,22 ± 5,34
48	<i>Folium Rubi fruticosi</i> (liść jeżyny)	Fo.11	10,93	12,55	21,54	10,93 ÷ 21,54	15,01 ± 5,71
49		Fo.12					15,33*
50		Fo.13	19,95	16,02	9,85	9,85 ÷ 19,95	15,27 ± 5,08
51		Fo.14	14,25	12,60	20,32	12,60 ÷ 20,32	15,72 ± 4,06
52	<i>Folium Farfarae</i> (liść podbiału)	Fo.15	221,7	192,2	191,5	191,5 ÷ 221,7	201,8 ± 17,24
53		Fo.16	623,6	623,5	624,2	623,5 ÷ 624,2	623,8 ± 0,38
54		Fo.17	116,2	100,6	108,4	100,6 ÷ 116,2	108,4 ± 7,8

55		Fo.18	149,5	133,0	144,9	133,0 ÷ 149,5	142,5 ± 8,51
56	<i>Folium Salviae</i> (liść szalwii)	Fo.19	36,60	31,81	41,43	31,81 ÷ 41,43	36,45 ± 5,06
57		Fo.20	14,67	35,03	22,77	14,67 ÷ 35,03	24,16 ± 10,25
58		Fo.21	10,26	37,29	21,58	10,26 ÷ 37,29	23,04 ± 13,57
59		Fo.22	28,95	33,26	35,08	28,95 ÷ 35,08	32,43 ± 3,14
60		Fo.23	15,49	29,14	17,62	15,49 ÷ 29,14	20,75 ± 7,35
61	<i>Folium Rubi idaei</i> (liść maliny)	Fo.24	20,98	16,10	31,93	16,10 ÷ 31,93	23,00 ± 8,11
62		Fo.25	17,75	27,43	14,43	14,43 ÷ 27,43	19,87 ± 6,75
63		Fo.26	18,18	16,49	23,86	16,49 ÷ 23,86	19,52 ± 3,88
64		Fo.27	17,77	21,14	36,26	17,77 ÷ 36,26	26,06 ± 9,84
65	<i>Folium Uvae ursi</i> (liść mącznicy)	Fo.28	34,89	26,21	38,34	26,21 ÷ 38,34	33,14 ± 6,25
66	<i>Folium Majoranae</i> (liść majeranku)	Fo.29	42,85	43,79	34,30	34,30 ÷ 43,79	40,31 ± 5,22
Flos (kwiaty)							
67	<i>Flos Millefolii</i> (kwiat krwawnika)	Fl.1	27,18	11,22	14,29	11,22 ÷ 27,18	17,56 ± 8,47
68		Fl.2	3,68	6,71	4,49	3,68 ÷ 6,71	4,96 ± 1,57
69		Fl.3	4,64	8,97	5,72	4,64 ÷ 8,97	6,44 ± 2,25
70		Fl.4	10,37	12,99	31,67	10,37 ÷ 31,67	18,34 ± 11,61
71	<i>Flos Lavendulae</i> (kwiat lawendy)	Fl.5	11,67	14,46	8,43	8,43 ÷ 14,46	11,52 ± 3,02
72		Fl.6	7,58	10,69	17,01	7,58 ÷ 17,01	11,76 ± 4,80

73		Fl.7	7,62	12,70	14,84	7,62 ÷ 14,84	11,72 ± 3,71
74		Fl.8	12,79	13,44	18,49	12,79 ÷ 18,49	14,91 ± 3,12
75	<i>Flos Cyani</i> (kwiat bławatka)	Fl.9	21,20	15,15	20,80	15,15 ÷ 21,20	19,05 ± 3,38
76		Fl.10	3,50	5,03	3,32	3,32 ÷ 5,03	3,95 ± 0,94
77		Fl.11	23,29	13,08	18,18	13,08 ÷ 23,29	18,19 ± 5,10
78		Fl.12	4,62	3,10	3,61	3,10 ÷ 4,62	3,77 ± 0,77
79	<i>Flos Calendulae</i> (kwiat nagietka)	Fl.13	15,33	16,16	27,23	15,33 ÷ 27,23	19,57 ± 6,64
80		Fl.14	20,12	31,25	26,28	20,12 ÷ 31,25	25,88 ± 5,57
81		Fl.15	42,61	31,88	31,91	31,88 ÷ 42,61	35,47 ± 6,19
82		Fl.16	18,52	25,34	24,50	18,52 ÷ 25,34	22,79 ± 3,72
83		Fl.17	13,38	22,94	16,33	13,38 ÷ 22,94	17,55 ± 4,89
84	<i>Flos Lamii albi</i> (kwiat jasnoty)	Fl.18	13,21	18,38	15,80	13,21 ÷ 18,38	15,79 ± 2,58
85		Fl.19	5,24	1,24	5,37	1,24 ÷ 5,37	3,95 ± 2,35
86		Fl.20	11,99	11,35	11,67	11,35 ÷ 11,99	11,68 ± 0,32
87	<i>Flos Chamomillae</i> (kwiat rumianku)	Fl.21	12,03	18,63	21,70	12,03 ÷ 21,70	17,45 ± 4,94
88		Fl.22	14,49	15,95	15,30	14,49 ÷ 15,95	15,25 ± 0,73
89		Fl.23	13,51	10,37	16,63	10,37 ÷ 16,63	13,50 ± 3,13
90	<i>Flos Helichrysi</i> (kwiat kocanki)	Fl.24	1,76	7,85	2,07	1,76 ÷ 7,85	3,89 ± 3,43
91		Fl.25	20,05	18,36	15,36	15,36 ÷ 20,05	17,92 ± 2,37
92		Fl.26					10,90*

93	<i>Flos Crataegi</i> (kwiat głogu)	Fl.27	8,31	8,36	17,07	8,31 ÷ 17,07	11,25 ± 5,05
94		Fl.28	17,18	28,77	21,22	17,18 ÷ 28,77	22,39 ± 5,88
95		Fl.29	22,53	20,48	16,97	16,97 22,53	19,99 2,81
96	<i>Flos Arnicae</i> (kwiat arniki)	Fl.30	14,69	17,95	15,01	14,69 ÷ 17,95	15,88 ± 1,80
97		Fl.31	12,87	19,19	15,69	12,87 ÷ 19,19	15,92 ± 3,17
98	<i>Flos Hippocastani</i> (kwiat kasztanowca)	Fl.32	9,06	8,17	14,83	8,17 ÷ 14,83	10,69 ± 3,61
Radix (korzenie)							
99	<i>Radix Agelicae</i> (korzeń arcydzięgla)	Ra.1	9,61	8,17	6,76	6,76 ÷ 9,61	8,19 ± 1,41
100		Ra.2	17,75	12,97	22,76	12,97 ÷ 22,76	17,83 ± 4,90
101		Ra.3	8,67	5,44	9,33	5,44 ÷ 9,33	7,81 ± 2,08
102	<i>Radix Bardanae</i> (korzeń łopianu)	Ra.4	6,71	2,84	5,21	2,84 ÷ 6,71	4,92 ± 1,95
103		Ra.5	10,33	15,02	19,70	10,33 ÷ 19,70	15,02 ± 4,69
104		Ra.6	21,38	18,55	28,57	18,55 ÷ 28,57	22,83 ± 5,17
105	<i>Radix Taraxaci</i> (korzeń mniszka)	Ra.7	8,11	6,61	9,26	6,61 ÷ 9,26	7,99 ± 1,33
106		Ra.8	3,62	7,28	5,48	3,62 ÷ 7,28	5,46 ± 1,83
107		Ra.9	8,47	11,96	10,66	8,48 ÷ 11,96	10,37 ± 1,76
108	<i>Radix Levistici</i> (korzeń lubczyka)	Ra.10	14,26	13,86	13,45	13,45 ÷ 14,26	13,86 ± 0,41
109		Ra.11	20,51	19,24	15,34	15,34 ÷ 20,51	18,36 ± 2,69
110		Ra.12	2,76	5,62	8,48	2,76 ÷ 8,48	5,62 ± 2,86

111	<i>Radix Inulae</i> (korzeń omanu)	Ra.13					12,78*
112		Ra.14	12,47	11,08	15,07	11,08 ÷ 15,07	12,87 ± 2,03
113		Ra.15					10,87*
114	<i>Radix Cichorii</i> (korzeń cykorii podróznika)	Ra.16	153,6	159,6	145,6	145,6 ÷ 159,5	152,9 ± 7,00
115		Ra.17	126,8	129,3	136,8	126,8 ÷ 136,8	131,0 ± 5,23
116		Ra.18					141,94*
117	<i>Radix Tormentillae</i> (korzeń pięciornika kurze ziele)	Ra.19	12,89	17,70	22,50	12,89 ÷ 22,50	17,70 ± 4,80
118		Ra.20	11,0	9,93	8,85	8,85 ÷ 11,00	9,93 ± 1,07
119		Ra.21	15,56	20,10	11,01	11,01 ÷ 20,10	15,56 ± 4,54
120	<i>Radix Glycyrrhizae</i> (korzeń lukrecji)	Ra.22	26,35	36,93	30,22	26,35 ÷ 36,93	31,17 ± 5,35
121		Ra.23	31,60	22,87	31,18	22,87 ÷ 31,60	28,55 ± 4,92
Fructus, semen (owoce i nasiona)							
122	<i>Fructus Anisi</i> (owoc anyżu)	Fr.1	25,50	28,57	27,48	25,50 ÷ 28,57	27,18 ± 1,56
123		Fr.2	22,73	28,41	29,24	22,73 ÷ 29,24	26,79 ± 3,54
124		Fr.3					27,98*
125	<i>Fructus Carvi</i> (owoc kminku)	Fr.4	29,27	31,85	32,19	29,27 ÷ 32,19	31,10 ± 1,60
126		Fr.5	33,86	31,60	30,08	30,08 ÷ 31,60	31,84 ± 1,90
127		Fr.6	39,29	32,95	27,74	27,74 ÷ 39,29	33,33 ± 5,78
128		Fr.7	15,90	14,35	13,02	13,02 ÷ 15,90	14,42 ± 1,44
129	<i>Fructus Rosae</i>	Fr.8	15,40	10,65	18,31	10,65 ÷ 18,31	14,79 ± 3,67

130	(owoc dzikiej róży)	Fr.9	7,74	8,78	13,21	7,74 ÷ 13,21	9,91 ± 2,90
131		Fr.10	27,79	20,64	24,21	20,64 ÷ 27,79	24,22 ± 3,57
132		Fr.11					16,30*
133	<i>Fructus Foeniculi</i> (owoc kopru)	Fr.12	25,43	26,67	21,75	21,75 ÷ 26,67	24,62 ± 2,56
134		Fr.13	39,83	32,22	37,45	32,22 ÷ 39,83	36,50 ± 3,89
135		Fr.14					30,56*
136		Fr.15					30,22*
137	<i>Fructus Coriandri</i> (owoc kolendry)	Fr.16	31,16	31,34	35,60	31,16 ÷ 35,60	32,70 ± 2,51
138		Fr.17	26,78	25,67	27,93	25,67 ÷ 27,93	26,79 ± 1,13
139		Fr.18	19,80	13,24	22,55	13,24 ÷ 22,55	18,53 ± 4,78
140	<i>Fructus Crataegi</i> (owoc głogu)	Fr.19	65,18	75,62	89,85	65,18 ÷ 89,85	76,88 ± 12,38
141		Fr.20	39,87	49,96	47,54	39,87 ÷ 49,96	45,79 ± 5,27
142		Fr.21	51,59	48,35	49,90	48,35 ÷ 51,59	49,95 ± 1,62
143		Fr.22	22,89	24,62	29,88	22,89 ÷ 29,88	25,79 ± 3,64
144	<i>Fructus Sorbi</i> (owoc jarzębiny)	Fr.23	18,14	24,48	26,74	18,14 ÷ 26,74	23,12 ± 4,46
145		Fr.24	12,76	6,58	19,32	6,58 ÷ 19,32	12,87 ± 6,37
146		Fr.25					18,01*
147	<i>Lini Semen</i> (nasiona lnu)	Se.26	57,85	79,97	67,14	57,85 ÷ 79,97	68,32 ± 11,11
148		Se.27	45,77	56,92	47,32	45,77 ÷ 56,92	50,00 ± 6,03

* wykonano pojedyncze oznaczenie z uwagi na małą ilość surowca

Tabela 16. Zawartość oznaczanych pierwiastków metalicznych w roślinnych surowcach leczniczych (zakres stężeń, średnia arytmetyczna ± odchylenie standardowe, n=3).

Lp	Nazwa surowca	Numer surowca	Cu [µg/g s.m]	Mn [µg/g s.m]	Zn [µg/g s.m]	Fe [µg/g s.m]
Herba (ziola)						
1	<i>Herba Melissa</i> (ziele melisy)	He.1	5,89 - 7,95 6,79 ± 1,05	68,18 - 80,77 73,90 ± 6,38	26,36 - 26,69 26,52 ± 0,16	627,53 - 648,24 637,87 ± 14,64
2		He.2	6,92 - 7,78 7,24 ± 0,47	49,50 - 57,21 52,79 ± 3,98	24,35 - 27,60 25,50 ± 1,82	341,50 - 342,26 341,88 ± 0,54
3	<i>Herba Millefolii</i> (ziele krwawnika)	He.3	7,96 - 8,44 8,19 ± 0,24	84,71 - 98,31 90,48 ± 7,03	41,70 - 49,18 46,52 ± 4,18	324,92 - 331,36 328,14 ± 4,55
4		He.4	6,46 - 7,22 6,86 ± 0,38	70,49 - 83,66 76,10 ± 6,80	33,38 - 40,51 37,99 ± 4,00	165,74 - 173,77 169,76 ± 5,67
5		He.5	6,03 - 6,72 6,34 ± 0,35	58,33 - 67,70 63,03 ± 4,68	29,84 - 34,26 31,40 ± 2,48	152,23 - 163,43 157,83 ± 7,92
6	<i>Herba Aisinthii</i> (ziele bylicy piołun)	He.6	6,73 - 7,44 7,08 ± 0,35	92,15 - 112,24 99,58 ± 11,02	50,41 - 57,42 54,06 ± 3,52	210,82 - 223,35 217,08 ± 8,86
7		He.7	9,29 - 9,88 9,54 ± 0,29	80,63 - 95,57 86,01 ± 8,30	51,92 - 55,88 53,78 ± 1,99	248,62 - 255,54 252,08 ± 4,90
8		He.8	8,40 - 8,65 8,49 ± 0,14	115,67 - 128,75 121,21 ± 6,77	54,14 - 56,74 55,84 ± 1,47	193,69 - 216,78 205,24 ± 16,33
9	<i>Herba Thymi</i> (ziele tymianku)	He.9	9,36 - 9,89 9,59 ± 0,27	174,30 - 175,34 174,82 ± 0,52	45,56 - 52,27 50,02 ± 3,86	735,12 - 767,60 751,36 ± 22,97
10		He.10	4,44 - 5,03 4,82 ± 0,33	112,74 - 131,54 122,10 ± 9,40	29,36 - 31,91 30,24 ± 1,45	904,49 - 920,64 912,56 ± 11,42
11		He.11	6,76 - 7,45 7,13 ± 0,35	82,92 - 97,80 89,86 ± 7,49	39,08 - 45,67 42,79 ± 3,38	412,77 - 437,11 424,94 ± 17,21
12		He.12	30,80 - 32,20 31,63 ± 0,73	195,22 - 231,15 212,95 ± 17,97	42,02 - 48,50 45,15 ± 3,25	1495,5*

13	<i>Herba Majoranae</i> (ziele majeranku)	He.13	6,27 - 7,55 7,05 ± 0,68	52,34 - 53,19 52,63 ± 0,48	39,84 - 45,27 42,23 ± 2,78	1055,20 - 1090,97 1073,08 ± 25,30
14		He.14	7,54 - 8,23 7,87 ± 0,35	53,46 - 56,91 54,82 ± 1,84	43,18 - 45,81 44,22 ± 1,40	1302,09 - 1330,08 1316,08 ± 19,79
15		He.15	6,54 - 7,17 6,91 ± 0,33	76,27 - 81,92 78,54 ± 2,98	30,88 - 34,06 32,08 ± 1,72	606,60 - 614,36 610,48 ± 5,49
16	<i>Herba Serpylli</i> (ziele macierzanki)	He.16	6,82 - 7,00 6,91 ± 0,09	118,61 - 127,84 123,16 ± 4,62	69,74 - 71,71 70,71 ± 0,98	259,14 - 285,28 272,21 ± 18,48
17		He.17	6,83 - 7,45 7,12 ± 0,31	147,12 - 155,88 150,19 ± 4,93	50,94 - 56,42 53,87 ± 2,76	334,90 - 347,31 341,11 ± 8,78
18		He.18	14,73 - 16,83 15,75 ± 1,05	175,75 - 184,68 180,22 ± 4,47	57,00 - 61,23 58,44 ± 2,42	241,96 - 246,13 244,05 ± 2,95
19		He.19	5,00 - 5,46 5,25 ± 0,23	118,63 - 135,75 129,22 ± 9,25	41,53 - 45,95 43,88 ± 2,22	147,56 - 155,26 151,41 ± 5,45
20	<i>Herba Cnici</i> (ziele drapacza)	He.20	4,57 - 5,72 5,10 ± 0,58	19,73 - 22,56 21,03 ± 1,43	20,06 - 21,83 20,82 ± 0,91	168,81 - 174,39 171,60 ± 3,95
21		He.21	4,60 - 5,21 4,91 ± 0,30	24,32 - 27,05 25,24 ± 1,57	21,89 - 23,55 22,63 ± 0,84	455,26 - 484,52 469,89 ± 20,69
22		He.22	5,17 - 5,68 5,41 ± 0,26	31,98 - 43,08 37,06 ± 5,61	34,16 - 36,77 35,87 ± 1,48	498,04 - 535,35 516,70 ± 26,38
23		He.23	6,19 - 6,42 6,34 ± 0,13	81,37 - 95,06 90,50 ± 7,90	59,29 - 65,50 62,28 ± 3,11	256,13 - 271,76 263,95 ± 11,05
24	<i>Herba Solidaginis</i> (ziele nawłoci)	He.24	6,46 - 6,75 6,58 ± 0,15	200,56 - 215,37 210,30 ± 8,44	53,35 - 65,72 60,40 ± 6,36	92,49 - 101,54 97,02 ± 6,40
25		He.25	5,17 - 5,70 5,42 ± 0,26	199,54 - 203,96 201,75 ± 2,21	42,86 - 50,51 47,67 ± 4,19	172,38 - 179,60 175,99 ± 5,10
26		He.26	7,05 - 7,61 7,29 ± 0,29	246,43 - 263,14 253,76 ± 8,54	55,97 - 59,79 57,39 ± 2,09	90,08 - 93,82 91,95 ± 2,64
27	<i>Herba Anserinae</i> (ziele pięciornika gęsiego)	He.27	5,88 - 6,04 5,96 ± 0,08	69,58 - 75,58 72,50 ± 3,00	39,62 - 44,15 41,83 ± 2,26	182,76 - 191,52 187,14 ± 6,20
28		He.28	5,64 - 5,98 5,76 ± 0,19	71,54 - 77,95 74,85 ± 3,21	42,27 - 46,10 43,78 ± 2,04	216,07 - 219,75 217,91 ± 2,60

29		He.29	4,48 - 5,10 4,83 ± 0,32	133,15 - 144,18 140,42 ± 6,30	46,52 - 54,48 50,06 ± 4,05	169,09 - 177,69 173,39 ± 6,08
30	<i>Herba Origani</i> (ziele lebidki)	He.30	7,00 - 7,62 7,34 ± 0,31	76,69 - 82,37 79,01 ± 2,98	61,76 - 68,7 65,67 ± 3,56	154,90 - 155,66 155,28 ± 0,53
31		He.31	7,07 - 7,42 7,27 ± 0,18	70,66 - 78,14 73,82 ± 3,87	57,47 - 61,72 59,50 ± 2,13	181,35 - 206,63 193,99 ± 17,87
32	<i>Herba Artemisiae</i> (ziele bylicy pospolitej)	He.32	10,07 - 11,44 10,76 ± 0,68	68,77 - 75,12 72,11 ± 3,19	34,02 - 43,28 39,65 ± 4,94	135,32 - 136,35 135,84 ± 0,73
33		He.33	11,02 - 11,81 11,43 ± 0,40	56,28 - 61,99 59,75 ± 3,05	50,75 - 52,49 51,88 ± 0,98	182,45 - 213,28 197,86 ± 21,80
34	<i>Herba Meliloti</i> (ziele nostryka)	He.34	5,38 - 6,18 5,67 ± 0,45	33,50 - 35,64 34,52 ± 1,07	25,44 - 31,66 28,57 ± 3,11	108,97 - 123,36 116,16 ± 10,18
35		He.35	7,59 - 8,66 8,19 ± 0,55	22,82 - 25,65 24,35 ± 1,43	28,13 - 29,88 28,92 ± 0,89	167,37 - 186,91 177,14 ± 13,82
36	<i>Herba Equiseti</i> (ziele skrzypu)	He.36	12,93 - 13,60 13,29 ± 0,34	42,30 - 45,04 43,92 ± 1,44	50,03 - 55,92 52,80 ± 2,96	267,20 - 289,30 278,25 ± 15,63
37		He.37	4,11 - 5,56 4,96 ± 0,76	53,25 - 67,79 59,48 ± 7,49	35,90 - 50,63 43,21 ± 7,36	144,74 - 161,80 153,27 ± 12,06
Folium (liście)						
38	<i>Folium Melissa</i> (liść melisy)	Fo.1	6,66 - 6,92 6,79 ± 0,13	113,42 - 129,47 118,91 ± 9,15	37,59 - 43,40 40,04 ± 3,01	783,86 - 793,93 788,90 ± 7,12
39		Fo.2	6,49 - 10,78 7,96 ± 2,44	59,22 - 64,64 62,15 ± 2,74	26,46 - 32,12 28,60 ± 3,07	708,94 - 712,62 710,78 ± 2,60
40		Fo.3	6,52 - 10,58 8,18 ± 2,13	43,24 - 51,46 48,06 ± 4,29	33,69 - 44,96 38,30 ± 5,91	198,84 - 216,29 209,53 ± 9,37
41	<i>Folium Fragariae</i> (liść poziomki)	Fo.4	5,89 - 9,13 7,04 ± 1,81	132,07 - 154,82 141,71 ± 11,76	19,85 - 25,67 22,05 ± 3,16	733,81*
42		Fo.5	4,84 - 7,88 5,90 ± 1,72	164,62 - 193,71 175,40 ± 15,94	29,16 - 37,28 32,21 ± 4,42	292,47 - 306,07 298,46 ± 6,94
43		Fo.6	4,48 - 7,31 5,47 ± 1,60	73,28 - 83,13 78,79 ± 5,03	23,64 - 31,53 26,39 ± 4,46	103,05 - 105,65 104,48 ± 1,32

44	<i>Folium Menthae</i> (liść mięty)	Fo.7	2,27 - 5,30] 3,67 ± 1,53	41,14 - 53,36 47,76 ± 6,17	29,42 - 31,93 30,55 ± 1,27	779,58*
45		Fo.8	8,48 - 11,30 9,44 ± 1,60	70,70 - 82,01 77,65 ± 6,09	36,37 - 43,12 38,97 ± 3,64	578,74 - 592,80 585,77 ± 9,94
46		Fo.9	9,56 - 14,47 11,45 ± 2,66	129,15 - 155,91 142,53 ± 13,38	54,71 - 57,94 56,63 ± 1,70	639,86 - 643,43 641,65 ± 2,52
47		Fo.10	7,42 - 13,00 10,03 ± 2,81	84,44 - 106,89 96,18 ± 11,26	36,15 - 37,85 36,74 ± 0,97	427,51*
48	<i>Folium Rubi fruticosi</i> (liść jeżyny)	Fo.11	4,20 - 7,80 5,43 ± 2,05	252,01 - 298,99 279,50 ± 23,49	42,88 - 56,96 48,22 ± 7,62	137,32 - 143,45 139,54 ± 3,40
49		Fo.12	4,49 - 7,54 5,67 ± 1,64	253,82 - 301,58 283,83 ± 26,13	43,08 - 45,56 44,14 ± 1,28	154,86 - 158,45 156,66 ± 1,80
50		Fo.13	5,42 - 7,45 6,14 ± 1,14	294,79 - 332,66 311,68 ± 19,27	46,47 - 58,02 51,14 ± 6,08	155,08 - 168,74 163,21 ± 7,19
51		Fo.14	5,40 - 7,12 6,14 ± 0,88	252,36 - 294,42 278,21 ± 22,62	46,51 - 49,16 47,90 ± 1,33	185,65 - 195,33 191,17 ± 4,98
52	<i>Folium Farfarae</i> (liść podbiału)	Fo.15	7,25 - 11,64 8,76 ± 2,50	51,86 - 63,79 57,23 ± 6,06	33,06 - 33,64 33,28 ± 0,31	271,65 - 284,04 276,24 ± 6,79
53		Fo.16	8,10 - 11,83 9,39 ± 2,12	54,41 - 59,81 56,57 ± 2,86	36,69 - 44,09 39,30 ± 4,16	643,35 - 651,80 647,58 ± 5,97
54		Fo.17	7,60 - 12,31 9,17 ± 2,72	62,00 - 71,10 65,72 ± 4,77	39,88 - 49,97 43,57 ± 5,57	614,85 - 619,61 617,23 ± 3,37
55		Fo.18	8,67 - 9,70 9,16 ± 0,51	64,20 - 71,49 68,29 ± 3,73	24,72 - 33,27 29,12 ± 4,28	458,59 - 478,31 468,45 ± 13,94
56	<i>Folium Salviae</i> (liść szalwii)	Fo.19	5,66 - 12,7 8,79 ± 3,61	29,72 - 40,69 35,93 ± 5,63	36,91 - 53,02 45,69 ± 8,15	572,52*
57		Fo.20	4,64 - 6,84 5,39 ± 1,26	138,13 - 161,72 148,48 ± 12,05	38,33 - 44,28 41,23 ± 2,98	800,80 - 803,34 802,07 ± 1,80
58		Fo.21	7,48 - 10,19 8,70 ± 1,38	173,17 - 183,30 178,24 ± 5,06	47,66 - 57,51 51,16 ± 5,50	868,40 - 902,88 885,64 ± 24,38
59		Fo.22	6,94 - 8,11 7,51 ± 0,59	87,01 - 97,85 93,64 ± 5,81	45,43 - 51,96 47,96 ± 3,50	642,68 - 674,26 658,47 ± 22,34

60	<i>Folium Rubi idaei</i> (liść maliny)	Fo.23	4,13 - 7,44 5,51 ± 1,72	222,94 - 257,02 239,98 ± 17,04	42,52 - 48,19 45,28 ± 2,84	143,58 - 151,94 148,99 ± 4,69
61		Fo.24	5,31 - 8,65 6,85 ± 1,69	224,36 - 237,98 231,17 ± 6,81	48,40 - 54,56 51,91 ± 3,17	139,43 - 164,56 154,61 ± 13,35
62		Fo.25	6,28 - 6,43 6,35 ± 0,08	250,50 - 256,91 253,66 ± 3,20	47,46 - 48,89 48,17 ± 0,72	203,08 - 220,79 211,91 ± 8,85
63		Fo.26	4,20 - 4,9 4,56 ± 0,37	235,29 - 241,16 238,22 ± 2,93	44,78 - 46,33 45,56 ± 0,77	126,88 - 132,76 130,38 ± 3,09
64	<i>Folium Uvae ursi</i> (liść mącznicy)	Fo.27	2,38 - 4,65 3,17 ± 1,28	20,48 - 21,66 21,25 ± 0,67	32,68 - 33,91 33,36 ± 0,62	127,28 - 136,79 130,85 ± 5,18
65		Fo.28	1,22 - 2,34 1,68 ± 0,59	60,48 - 71,52 64,67 ± 5,98	75,04 - 80,12 78,25 ± 2,79	70,33 - 97,98 84,12 ± 13,83
66	<i>Folium Majoranae</i> (liść majeranku)	Fo.29	9,58 - 11,13 10,19 ± 0,82	88,31 - 90,07 89,02 ± 0,93	28,10 - 32,98 30,91 ± 2,53	1371,4*
Flos (kwiaty)						
67	<i>Flos Millefolii</i> (kwiat krwawnika)	F1.1	16,64 - 16,72 16,68 ± 0,04	147,96 - 153,74 151,44 ± 3,06	34,83 - 42,81 38,82 ± 3,99	277,42 - 285,14 281,49 ± 3,88
68		F1.2	13,78 - 16,22 14,62 ± 1,38	113,69 - 115,88 114,78 ± 1,09	16,63 - 28,39 23,93 ± 6,37	173,34 - 201,49 187,42 ± 14,07
69		F1.3	15,05 - 16,66 15,77 ± 0,82	53,58 - 62,79 58,80 ± 4,72	17,31 - 27,49 23,95 ± 5,76	114,61 - 120,48 117,47 ± 2,94
70		F1.4	16,51 - 19,46 17,51 ± 1,69	115,42 - 137,38 127,82 ± 11,25	22,80 - 32,27 27,71 ± 4,74	134,30 - 145,49 139,90 ± 5,60
71	<i>Flos Lavendulae</i> (kwiat lawendy)	F1.5	9,93*	74,99*	24,21*	716,17*
72		F1.6	8,07 - 8,60 8,33 ± 0,27	72,70 - 82,40 76,67 ± 5,08	19,10 - 29,83 26,20 ± 6,14	980,79 - 1025,56 1003,17 ± 22,38
73		F1.7	8,06 - 11,05 9,17 ± 1,64	102,35 - 106,93 105,09 ± 2,42	21,00 - 30,38 26,52 ± 4,91	216,54 - 226,03 221,78 ± 4,82
74		F1.8	11,14 - 13,47 12,30 ± 1,16	42,50 - 43,92 43,22 ± 0,71	14,27 - 25,06 19,91 ± 5,41	913,92 - 933,13 923,52 ± 9,60

75	<i>Flos Cyani</i> (kwiat bławatka)	Fl.9	5,42*	79,88 - 98,32 89,10 ± 9,22	20,58 - 22,20 21,39 ± 0,81	206,55*
76		Fl.10	11,34 - 13,49 12,41 ± 1,08	92,01 - 94,25 93,13 ± 1,12	22,94 - 24,37 23,65 ± 0,72	301,83 - 304,67 303,25 ± 1,42
77		Fl.11	5,38 - 8,17 7,21 ± 1,58	116,15 - 133,05 124,50 ± 8,45	27,44 - 28,54 28,10 ± 0,58	175,74 - 209,16 190,65 ± 17,00
78		Fl.12	7,90 - 8,31 8,11 ± 0,20	71,25 - 78,51 74,80 ± 3,64	24,50 - 27,57 26,22 ± 1,56	188,10 - 202,49 194,46 ± 7,34
79	<i>Flos Calendulae</i> (kwiat nagietka)	Fl.13	11,87 - 13,93 12,90 ± 1,03	30,24 - 33,62 31,93 ± 1,69	39,28 - 49,87 44,58 ± 5,30	346,70 - 349,65 348,17 ± 1,48
80		Fl.14	10,98 - 11,50 11,17 ± 0,28	26,71 - 36,68 30,41 ± 5,46	31,05 - 36,51 33,00 ± 3,04	256,34 - 270,95 264,35 ± 7,40
81		Fl.15	13,19 - 13,43 13,32 ± 0,12	42,33 - 43,91 43,19 ± 0,80	26,64 - 34,70 31,82 ± 4,49	127,89 - 130,12 129,20 ± 1,17
82		Fl.16	10,50 - 13,93 11,82 ± 1,84	86,93 - 113,80 96,60 ± 14,93	38,03 - 45,41 41,47 ± 3,69	173,75 - 180,07 176,91 ± 3,16
83		Fl.17	15,92 - 16,45 16,24 ± 0,28	48,98 - 55,09 52,88 ± 3,39	34,27 - 37,86 36,43 ± 1,90	168,96 - 177,76 172,67 ± 4,56
84	<i>Flos Lamii albi</i> (kwiat jasnoty)	Fl.18	7,04*	35,40*	21,82*	209,39*
85		Fl.19	8,17 - 8,26 8,22 ± 0,04	34,93 - 36,11 35,54 ± 0,59	28,60 - 30,00 29,49 ± 0,77	324,16 - 336,26 331,35 ± 6,36
86		Fl.20	8,17 - 8,38 8,24 ± 0,12	33,50 - 36,86 35,36 ± 1,71	23,47 - 24,02 23,72 ± 0,28	260,73 - 286,39 272,08 ± 13,08
87	<i>Flos Chamomillae</i> (kwiat rumianku)	Fl.21	11,03 - 13,06 11,73 ± 1,16	60,82 - 63,01 62,18 ± 1,19	36,87 - 38,67 37,87 ± 0,91	229,26 - 237,59 233,86 ± 4,23
88		Fl.22	10,68 - 11,27 11,00 ± 0,30	231,45 - 234,35 232,89 ± 1,45	31,85 - 35,79 33,31 ± 2,16	332,64 - 344,11 338,26 ± 5,74
89		Fl.23	10,85 - 11,27 11,10 ± 0,22	210,86 - 229,46 218,48 ± 9,74	37,76 - 43,03 40,77 ± 2,71	321,00 - 340,69 333,32 ± 10,74
90	<i>Flos Helichrysi</i>	Fl.24	11,00 - 13,64 11,95 ± 1,47	162,54 - 182,62 172,58 ± 10,04	22,56 - 27,82 25,29 ± 2,64	125,15 - 130,57 127,41 ± 2,82

91	(kwiat kocanki)	Fl.25	10,85 - 11,35 11,09 ± 0,25	127,46 - 131,85 129,65 ± 2,20	27,14 - 30,64 28,76 ± 1,76	109,05 - 118,32 114,40 ± 4,79
92		Fl.26	10,48 - 10,90 10,73 ± 0,22	95,39 - 130,40 108,74 ± 18,93	23,15 - 27,24 25,44 ± 2,09	178,57 - 191,24 186,49 ± 6,90
93	<i>Flos Crataegi</i> (kwiat głogu)	Fl.27	13,74 - 13,99 13,86 ± 0,12	47,86 - 53,62 50,74 ± 2,88	29,94 - 47,94 38,88 ± 9,00	281,26 - 283,02 282,14 ± 0,88
94		Fl.28	10,83 - 11,09 10,93 ± 0,14	47,31 - 52,74 49,85 ± 2,73	26,26 - 27,18 26,59 ± 0,51	156,56 - 162,44 159,89 ± 3,02
95		Fl.29	13,66 - 14,37 14,02 ± 0,36	51,80 - 64,49 58,68 ± 6,41	25,28 - 27,89 26,19 ± 1,47	217,05 - 231,07 223,19 ± 7,17
96	<i>Flos Arnicae</i> (kwiat arniki)	Fl.30	8,12 - 8,34 8,27 ± 0,13	94,93 - 98,52 96,72 ± 1,79	28,34 - 31,12 29,28 ± 1,60	288,73 - 304,97 296,86 ± 8,12
97		Fl.31	16,67 - 19,03 18,08 ± 1,24	87,12 - 92,54 89,81 ± 2,71	26,37 - 30,57 28,60 ± 2,11	320,74 - 344,51 332,58 ± 11,89
98	<i>Flos Hippocastani</i> (kwiat kasztanowca)	Fl.32	13,78 - 16,08 14,65 ± 1,24	37,14 - 37,32 37,23 ± 0,09	21,78 - 25,95 23,95 ± 2,09	204,30 - 214,63 210,44 ± 5,44
Radix (korzenie)						
99	<i>Radix Agelicae</i> (korzeń arcydzięgla)	Ra.1	16,66 - 18,56 17,44 ± 1,00	14,05 - 14,47 14,26 ± 0,21	24,39 - 26,93 25,66 ± 1,27	333,23 - 368,22 351,29 ± 17,52
100		Ra.2	8,27 - 8,69 8,48 ± 0,21	86,52 - 93,33 89,92 ± 3,40	23,70 - 26,98 25,00 ± 1,74	324,26 - 358,24 343,400 ± 17,40
101		Ra.3	11,01 - 11,18 11,10 ± 0,09	74,73 - 81,82 78,28 ± 3,55	22,65 - 28,35 25,05 ± 2,96	1265,00 - 1309,66 1288,87 ± 22,49
102	<i>Radix Bardanae</i> (korzeń łopianu)	Ra.4	7,95 - 13,58 10,79 ± 2,81	58,01 - 59,74 58,99 ± 0,88	19,61 - 25,52 22,00 ± 3,11	364,86 - 367,03 365,94 ± 1,84
103		Ra.5	11,12 - 16,78 14,77 ± 3,16	43,69 - 49,27 46,48 ± 2,79	17,06 - 21,59 18,72 ± 2,49	747,51*
104		Ra.6	10,51 - 16,74 12,76 ± 3,45	15,53 - 15,96 15,74 ± 0,22	16,57 - 21,02 18,30 ± 2,39	580,80*

105	<i>Radix Taraxaci</i> (korzeń mniszka)	Ra.7	13,34 - 13,46 13,41 ± 0,06	16,78 - 31,24 24,01 ± 7,23	19,21 - 23,95 22,36 ± 2,73	302,84 - 320,95 311,90 ± 12,80
106		Ra.8	10,74 - 11,08 10,88 ± 0,18	50,00 - 50,26 5 0,14 ± 0,13	13,78 - 16,06 14,83 ± 1,15	237,18 - 256,03 246,60 ± 13,33
107		Ra.9	13,54 - 13,94 13,72 ± 0,20	35,68 - 36,93 36,30 ± 0,62	15,17 - 17,84 16,65 ± 1,36	707,32 - 727,34 717,33 ± 14,16
108	<i>Radix Levistici</i> (korzeń lubczyka)	Ra.10	10,93 - 11,35 11,18 ± 0,22	36,39 - 42,08 39,24 ± 2,84	18,03 - 23,10 20,80 ± 2,56	1051,67 - 1076,92 1064,29 ± 12,63
109		Ra.11	11,28 - 13,82 12,92 ± 1,42	65,63 - 74,76 70,20 ± 4,56	19,17 - 22,67 21,23 ± 1,83	1250,55 - 1254,09 1252,68 ± 1,88
110		Ra.12	10,81 - 11,04 10,96 ± 0,13	55,45 - 79,12 67,28 ± 11,83	18,50 - 24,60 21,55 ± 3,05	719,21 - 747,29 733,25 ± 19,86
111	<i>Radix Inulae</i> (korzeń omanu)	Ra.13	8,11 - 8,30 8,19 ± 0,10	24,02 - 33,72 28,87 ± 4,85	20,75 - 28,00 24,99 ± 3,78	254,65 - 267,51 260,00 ± 6,70
112		Ra.14	15,89 - 18,90 17,09 ± 1,60	53,17 - 59,24 56,20 ± 3,03	27,00 - 35,48 31,91 ± 4,39	298,38 - 317,66 310,82 ± 10,79
113		Ra.15	10,87 - 11,28 11,09 ± 0,20	51,89 - 60,85 56,37 ± 4,48	31,96 - 38,34 35,15 ± 3,18	312,24 - 327,07 321,12 ± 7,84
114	<i>Radix Cichorii</i> (korzeń cykorii podróżnika)	Ra.16	2,71 - 2,74 2,72 ± 0,02	63,64 - 66,18 64,91 ± 1,27	8,50 - 8,9 8,72 ± 0,22	277,05 - 286,90 281,97 ± 4,92
115		Ra.17	2,75 - 5,34 3,63 ± 1,48	17,99 - 28,42 21,95 ± 5,65	8,81 - 9,63 9,12 ± 0,44	276,50 - 311,85 292,69 ± 17,86
116		Ra.18	2,54 - 2,83 2,68 ± 0,14	20,64 - 21,08 20,86 ± 0,22	7,89 - 9,07 8,57 ± 0,62	70,81 - 71,31 71,06 ± 0,25
117	<i>Radix Tormentillae</i> (korzeń pięciornika kurze ziele)	Ra.19	8,00 - 8,91 8,32 ± 0,51	9,33 - 10,17 9,75 ± 0,42	87,95 - 91,76 89,77 ± 1,91	94,35 - 96,83 95,40 ± 1,29
118		Ra.20	8,35 - 8,40 8,38 ± 0,03	68,90 - 72,67 71,62 ± 2,37	94,31 - 101,03 97,20 ± 3,46	116,95 - 132,12 122,13 ± 8,65
119		Ra.21	8,19 - 11,27 10,13 ± 1,69	67,62 - 90,16 82,52 ± 12,90	93,40 - 106,24 100,25 ± 6,46	171,92 - 184,98 180,61 ± 7,53
120	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	Ra.22	10,83 - 11,19 11,06 ± 0,20	73,75 - 88,16 80,71 ± 7,22	8,12 - 9,51 8,85 ± 0,70	228,90 - 233,75 231,99 ± 2,68

121	(korzeń lukrecji)	Ra.23	16,66 - 18,56 17,44 ± 1,00	14,05 - 14,47 14,26 ± 0,21	24,39 - 26,93 25,66 ± 1,27	333,23 - 368,22 351,29 ± 17,52
Fructus, semen (owoce i nasiona)						
122	<i>Fructus Anisi</i> (owoc anyżu)	Fr.1	7,93 - 8,33 8,13 ± 0,28	48,92 - 51,33 50,12 ± 1,71	22,47 - 23,06 22,76 ± 0,42	329,46 - 339,83 334,64 ± 7,34
123		Fr.2	8,22 - 10,81 9,52 ± 1,83	37,39 - 39,99 38,69 ± 1,84	27,69 - 28,10 27,89 ± 0,29	244,57 - 263,35 253,96 ± 13,28
124		Fr.3	8,36 - 10,90 9,63 ± 1,80	36,60 - 37,84 37,22 ± 0,87	25,89 - 27,03 26,46 ± 0,81	197,72 - 200,62 199,17 ± 2,05
125	<i>Fructus Carvi</i> (owoc kminku)	Fr.4	10,91 - 10,94 10,92 ± 0,02	35,28 - 37,70 36,49 ± 1,71	26,73 - 28,17 27,45 ± 1,02	86,82 - 87,65 87,24 ± 0,59
126		Fr.5	11,01 - 11,10 11,06 ± 0,06	36,21 - 36,82 36,51 ± 0,42	26,08 - 30,29 28,19 ± 2,97	67,68 - 70,24 68,96 ± 1,80
127		Fr.6	10,74 - 10,90 10,82 ± 0,12	35,83 - 38,41 37,12 ± 1,82	27,38 - 27,80 27,59 ± 0,30	86,21 - 86,96 86,59 ± 0,52
128		Fr.7	8,20 - 11,04 9,62 ± 2,01	46,31 - 48,08 47,19 ± 1,25	24,56 - 26,79 25,67 ± 1,57	121,01 - 128,17 124,59 ± 5,06
129	<i>Fructus Rosae</i> (owoc dzikiej róży)	Fr.8	5,23 - 5,60 5,41 ± 0,26	45,95 - 47,06 46,50 ± 0,78	10,36 - 10,45 10,41 ± 0,06	38,79 - 43,47 41,13 ± 3,31
130		Fr.9	5,42 - 5,44 5,43 ± 0,14	41,16 - 42,92 42,04 ± 1,24	8,16 - 8,67 8,42 ± 0,36	28,97 - 29,62 29,30 ± 0,46
131		Fr.10	5,44 - 5,58 5,51 ± 0,10	35,75 - 36,88 36,31 ± 0,80	10,61 - 11,42 11,02 ± 0,57	27,68 - 28,59 28,13 ± 0,64
132		Fr.11	2,73 - 2,78 2,76 ± 0,04	39,85 - 41,83 40,84 ± 1,41	7,93 - 9,47 8,70 ± 1,09	55,52 - 67,24 61,38 ± 8,29
133	<i>Fructus Foeniculi</i> (owoc kopru)	Fr.12	16,35 - 19,29 17,82 ± 2,08	39,56 - 42,36 40,96 ± 1,98	26,70 - 29,21 27,96 ± 1,78	152,88 - 156,17 154,52 ± 2,33
134		Fr.13	13,93 - 16,01 14,97 ± 1,47	60,54 - 61,66 61,10 ± 0,79	25,08 - 25,09 25,08 ± 0,003	84,29 - 91,02 87,65 ± 4,76
135		Fr.14	13,61 - 13,62 13,62 ± 0,01	55,86 - 57,30 56,58 ± 1,02	22,34 - 25,59 23,96 ± 2,29	62,53 - 65,91 64,22 ± 2,39

136		Fr.15	13,56 - 13,87 13,71 ± 0,22	75,57 - 77,67 76,62 ± 1,49	23,30 - 25,22 24,26 ± 1,35	213,18 - 219,87 216,52 ± 4,73
137	<i>Fructus Coriandri</i> (owoc kolendry)	Fr.16	11,10 - 13,76 12,43 ± 1,88	80,89 - 84,39 82,64 ± 2,47	28,62 - 36,64 32,63 ± 5,68	245,17 - 254,04 249,61 ± 6,28
138		Fr.17	10,97 - 13,47 12,22 ± 1,77	67,27 - 67,56 67,41 ± 0,21	31,79 - 33,19 32,49 ± 0,99	81,22 - 84,40 82,81 ± 2,25
139		Fr.18	13,55 - 16,58 15,06 ± 2,14	66,08 - 69,93 68,00 ± 2,72	34,95 - 39,52 37,24 ± 3,23	182,02 - 182,84 182,43 ± 0,58
140	<i>Fructus Crataegi</i> (owoc głogu)	Fr.19	5,41 - 5,54 5,47 ± 0,09	25,68 - 27,34 26,51 ± 1,17	9,14 - 9,7 9,44 ± 0,42	34,71 - 36,73 35,72 ± 1,43
141		Fr.20	5,53 - 5,60 5,56 ± 0,05	10,08 - 12,03 11,05 ± 1,38	8,02 - 8,12 8,07 ± 0,07	32,38 - 36,70 34,54 ± 3,06
142		Fr.21	8,03 - 8,07 8,05 ± 0,03	13,00 - 15,63 14,31 ± 1,86	8,61 - 9,10 8,86 ± 0,35	32,77 - 37,77 35,27 ± 3,53
143		Fr.22	5,54 - 5,57 5,56 ± 0,01	15,53 - 17,01 16,27 ± 1,04	6,68 - 6,93 6,81 ± 0,18	48,88 - 49,05 48,96 ± 0,12
144	<i>Fructus Sorbi</i> (owoc jarzębiny)	Fr.23	5,48 - 5,56 5,52 ± 0,06	96,78 - 100,06 98,42 ± 2,32	7,68 - 8,07 7,87 ± 0,28	64,64 - 68,13 66,38 ± 2,46
145		Fr.24	2,68 - 2,69 2,68 ± 0,01	99,92 - 100,58 100,25 ± 0,46	6,19 - 7,23 6,71 ± 0,73	28,53 - 31,84 30,18 ± 2,34
146		Fr.25	5,40 - 5,56 5,48 ± 0,12	42,61 - 42,85 42,73 ± 0,17	4,17 - 4,59 4,38 ± 0,29	27,19 - 27,49 27,34 ± 0,21
147	<i>Lini Semen</i> (nasiona lnu)	Se.26	13,62 - 13,90 13,76 ± 0,20	30,86 - 31,94 31,40 ± 0,77	31,04 - 36,97 34,01 ± 4,19	58,31 - 60,85 59,58 ± 1,80
148		Se.27	16,51 - 18,78 17,65 ± 1,60	21,92 - 22,32 22,12 ± 0,28	37,71 - 39,44 38,57 ± 1,22	37,62 - 51,08 44,35 ± 9,52

* wykonano pojedyncze oznaczenie z uwagi na małą ilość surowca

2. Omówienie wyników oznaczeń selenu

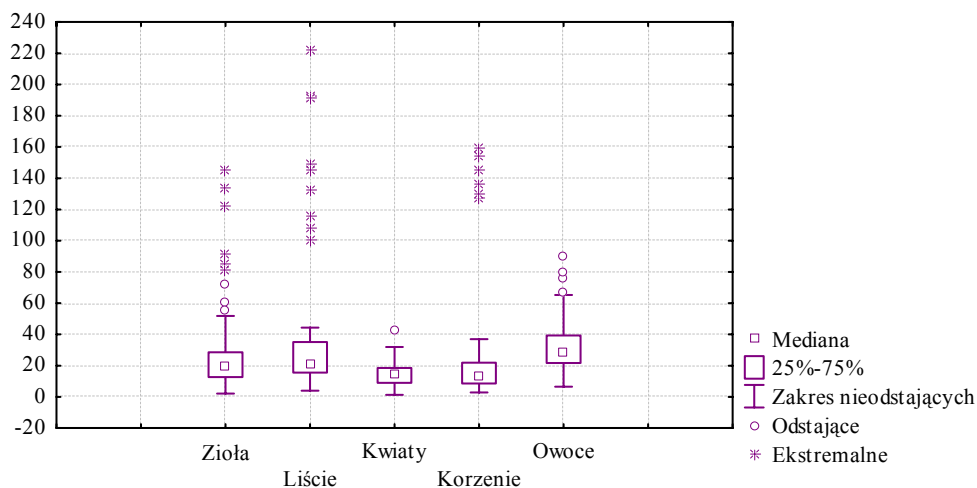
Wyniki analiz zawartości selenu w roślinnych surowcach leczniczych zestawiono w Tabeli 15. W wyniku przeprowadzonych oznaczeń stwierdzono, że ilość selenu w surowcach roślinnych waha się w granicach od kilku do kilkunastu lub kilkudziesięciu nanogramów w gramie suchej masy surowca. Stwierdzono także występowanie kilku surowców, w których poziom selenu przekroczył 100 ng/g, tj. liść podbiału (623,8; 201,8; 142,5; 108,4 ng/g), korzeń cykorii podróżnika (152,9; 130,9 ng/g) i ziele skrzypu (133,7 ng/g). Wysokie stężenie selenu oznaczono także w ziele majeranku i owocu głogu.

Ocenę statystyczną zawartości selenu w analizowanych surowcach przedstawiono w Tabeli 17, w której zestawiono parametry statystyczne dla grup zawierających wszystkie surowce oraz oddzielnie, dla grup surowców, z których wyłączono próbki o ekstremalnie wysokich stężeniach selenu, powyżej 100 ng/g.

Tabela 17. Statystyka opisowa zawartości selenu w poszczególnych grupach roślinnych surowców leczniczych.

Selen	Parametry statystyczne	Ziola	Liście	Kwiaty	Korzenie	Owoce i nasiona
Liczba surowców		37	29	32	23	27
Wszystkie surowce	średnia arytmetyczna	26,01	58,55	14,80	26,90	32,08
	odchylenie standardowe	24,82	121,25	7,10	40,17	17,10
	mediana	19,66	21,04	15,79	14,44	27,18
	maksimum	133,7	623,8	35,47	152,92	76,88
	minimum	2,77	8,45	3,77	4,92	9,91
	rozstęp	130,89	615,35	31,70	148,00	66,97
Liczba surowców		36	25		20	
Bez surowców o zawartości selenu powyżej 100 ng/g	średnia arytmetyczna	22,93	21,92		14,11	
	odchylenie standardowe	16,85	9,27		7,67	
	mediana	19,42	19,87		13,36	
	maksimum	86,6	41,99		31,17	
	minimum	2,77	8,45		4,92	
	rozstęp	83,39	33,54		26,25	

Z analizy danych zawartych w Tabeli 17 i przedstawionych graficznie na Rys. 2 wynika, że zawartość selenu w poszczególnych grupach surowców jest do siebie zbliżona z wyjątkiem próbek o skrajnie wysokim stężeniu selenu, które występowały w każdej grupie, oprócz kwiatów.



Rys. 2. Wykres charakterystyk grupowych dla selenu w analizowanych surowcach leczniczych (bez liścia podbiału).

Biorąc pod uwagę średnią zawartość selenu w poszczególnych grupach surowców leczniczych, z wyłączeniem próbek o zawartości selenu powyżej 100 ng/g s.m. surowca, można uszeregować je w następującej kolejności:

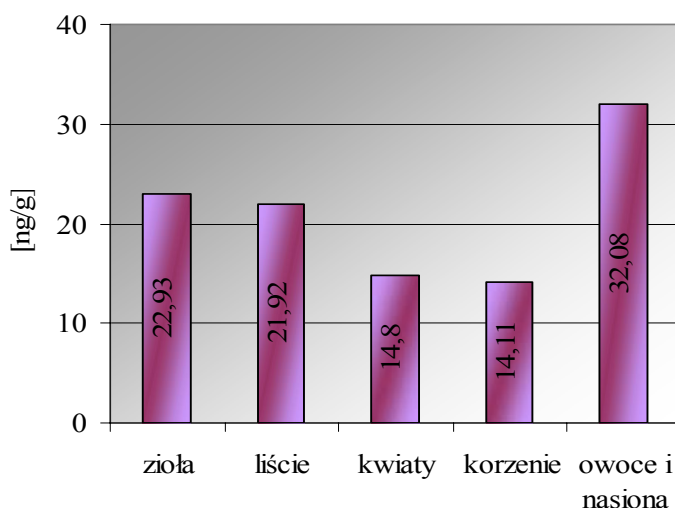
owoce i nasiona > ziela > liście > kwiaty > korzenie

co przedstawia Rys. 3.

Największą średnią zawartością selenu w badanych surowcach charakteryzują się owoce i nasiona (32,08 ng/g). Wśród nich najwyższe stężenie selenu stwierdzono w owocu głogu (Fr.19) z firmy Herbapol – Bydgoszcz. Wynosi ono 76,88 ng/g i jest wyższe w porównaniu z wartościami dla pozostałych próbek tego surowca (Fr.20 – 45,79 ng/g, Fr.21 – 49,95 ng/g, Fr.22 – 25,79 ng/g), odpowiednio z zakładów Herbapol – Lublin, Kawon – Gostyń i Herbalux – Warszawa. Wysoką zawartość selenu prezentują także nasiona lnu (Se.26) 68,32 ng/g i (Se.27) 50,00 ng/g. Najniższą zawartość selenu w grupie owoców stwierdzono w owocu dzikiej róży, Fr.9 – 9,91 ng Se/g.

Analizując poziom selenu w grupie owoców w próbkach surowców pochodzących od tego samego gatunku rośliny, ale otrzymanych z różnych zakładów zielarskich można stwierdzić, że występują różnice w zawartości selenu, co potwierdza zawartość tego

pierwiastka w próbkach owocu kminku. Trzy surowce uzyskane z firmy Kawon – Gostyń (Fr.4, Fr.5, Fr.6), charakteryzują się podobną zawartością selenu, odpowiednio 31,10; 31,84 i 33,33 ng/g, natomiast próbka Fr.7 (Herbalux – Warszawa) ilością selenu o połowę niższą 14,42 ng/g.



Rys. 3. Średnie arytmetyczne zawartości selenu w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych.

Bogatym źródłem selenu są również zioła (średnia zawartość 22,93 ng/g). W grupie tej najwyższe stężenie selenu wykryto w liściu skrzypu, He.36, uzyskanym z firmy Kawon – Gostyń. Wynosi ono 133,7 ng/g i jest 6,5 razy wyższe od zawartości oznaczanego pierwiastka w drugiej próbce tego surowca He.37 – 19,90 ng/g, uzyskanego z zakładu Boguccy – Kraków. Wysoką zawartość selenu prezentują także próbki ziela majeranku, He.13 – 63,04 ng/g i He.14 – 86,16 ng/g, otrzymane z firmy Herbapol – Bydgoszcz, podczas gdy trzecia próbka tego samego surowca (He.15 – 3,82 ng/g, Kawon – Gostyń) jest jedną z dwóch o najniższej zawartości selenu w grupie ziół (ziele bylicy piołun He.6 – 2,77 ng/g). Istotnym źródłem selenu są także próbki ziela macierzanki o zawartości odpowiednio 44,91; 39,40 i 47,85 ng/g

Porównując stężenia selenu w surowcach grupy ziół pochodzących od tego samego gatunku rośliny leczniczej, ale z różnych zakładów zielarskich zaobserwowano zróżnicowanie zawartości oznaczanego pierwiastka w zależności od producenta np.: ziele majeranku i krwawnika. Stwierdzono także różnice w zawartości selenu w obrębie próbek pochodzących od tego samego producenta, np. ziele drapacza (He.20 – 23,57 ng/g, He.21 – 33,15 ng/g,

He.22 – 11,19 ng/g, Kawon – Gostyń), ziele bylicy piołun (He.6 – 2,77 ng/g, He.7 – 18, 44 ng/g, He.8 – 14,04 ng/g, Kawon – Gostyń). Zauważono także, że próbki surowców pochodzących z zakładu Kawon – Gostyń charakteryzują się wyższą zawartością selenu w porównaniu z surowcami pochodzącymi z firmy Boguccy – Kraków, ziele krwawnika i skrzypu).

Rozpatrując zawartość selenu w grupie liści można stwierdzić, że w przypadku większości próbek stężenie oznaczanego pierwiastka waha się w granicach od 15 do 25 ng/g suchej masy surowca przy wartości średniej rzędu 21,92 ng/g. W grupie tej występuje próbka o najwyższej zawartości selenu wśród wszystkich oznaczanych surowców leczniczych, jest nią liść podbiału Fo.16, Kawon – Gostyń. Zawiera on 623,8 ng Se/g s.m., przy czym ilość tego pierwiastka w pozostałych próbkach tego samego surowca jest już niższa i wynosi odpowiednio Fo.15 – 201,8 ng/g, Fo.17 – 108,4 ng/g i Fo.18 – 142,5 ng/g. Znaczne ilości selenu zawierają także próbki liścia mięty (Fo.8) 41,99 ng/g oraz liścia majeranku 40,31 ng/g. Najniższą zawartość selenu stwierdzono w liściu melisy (Fo.1) 8,45 ng/g s.m. surowca.

Kwiaty i korzenie charakteryzują się najmniejszą ilością selenu spośród wszystkich badanych surowców roślinnych. Średnia zawartość selenu w tych grupach surowców wynosi odpowiednio 14,80 i 14,11 ng/g.

W grupie kwiatów w większości próbek stężenie selenu znajdowało się w granicach od 10 do 20 ng/g. Największą ilość pierwiastka oznaczono w kwiecie nagietka – 35,47 ng Se/g (Fl.15, Herbapol – Lublin) i była ona wyższa w porównaniu z pozostałymi próbkami tego samego surowca, pochodzącymi z zakładów Herbapol – Bydgoszcz (19,57 ng/g – Fl.13 i 25,88 ng/g – Fl.14) oraz z Kawonu – Gostyń (Fl.16 – 22,79 i Fl.17 – 17,55 ng/g).

Porównując zawartość selenu w surowcach grupy kwiatów stwierdzono, że w próbkach tego samego surowca pochodzących od różnych producentów znajdują się różne ilości selenu. Dwie próbki kwiatu głogu (Fl.28 – 22,39 ng/g i Fl.29 – 19,99 ng/g), uzyskane z firmy Kawon – Gostyń zawierały dwa razy więcej selenu niż surowiec uzyskany z zakładów Herbapol – Bydgoszcz (Fl.27) 11,25 ng/g. Stwierdzono także różnice w ilości selenu w obrębie surowców pochodzących od tego samego gatunku rośliny uzyskanych od określonego producenta, np. kwiaty bławatka z zakładu Herbapol – Lublin zawierały 3,95; 18,19 i 3,77 ng Se/g. Podobną sytuację prezentują próbki kwiatu jasnoty białej i krwawnika.

Wśród korzeni zasobny w selen jest korzeń cykorii podróżnika. W dwóch próbkach pochodzących z zakładu Kawon – Gostyń, stężenie selenu wynosiło 152,92 ng/g (Ra. 16) i 130,97 ng/g (Ra.17). Najmniejszą ilość selenu stwierdzono w korzeniu łopianu (Kawon –

Gostyń) Ra.4 – 4,92 ng/g i ilość ta była niższa w porównaniu z pozostałymi próbkami tego surowca (Ra.5 – 15,02 ng/g i Ra.6 – 22,83 ng/g).

Porównując zawartość selenu w próbkach korzeni pochodzących od tego samego lub różnych producentów stwierdzono, że podobnie jak w innych grupach występują różnice w ilości selenu, np. korzeń mniszka zawierał selen w ilości 7,99 ng/g (Herbapol – Bydgoszcz), 5,46 ng/g (Herbapol – Lublin) oraz 10,37 ng/g (Kawon – Gostyń); korzeń lubczyka 13,86; 18,39 i 5,62 ng Se/g (Kawon – Gostyń).

3. Omówienie wyników oznaczeń pierwiastków metalicznych

Wyniki oznaczeń zawartości miedzi, manganu, cynku i żelaza zestawiono w Tabeli 16, natomiast ich statystyczną ocenę przedstawiono w Tabeli 18.

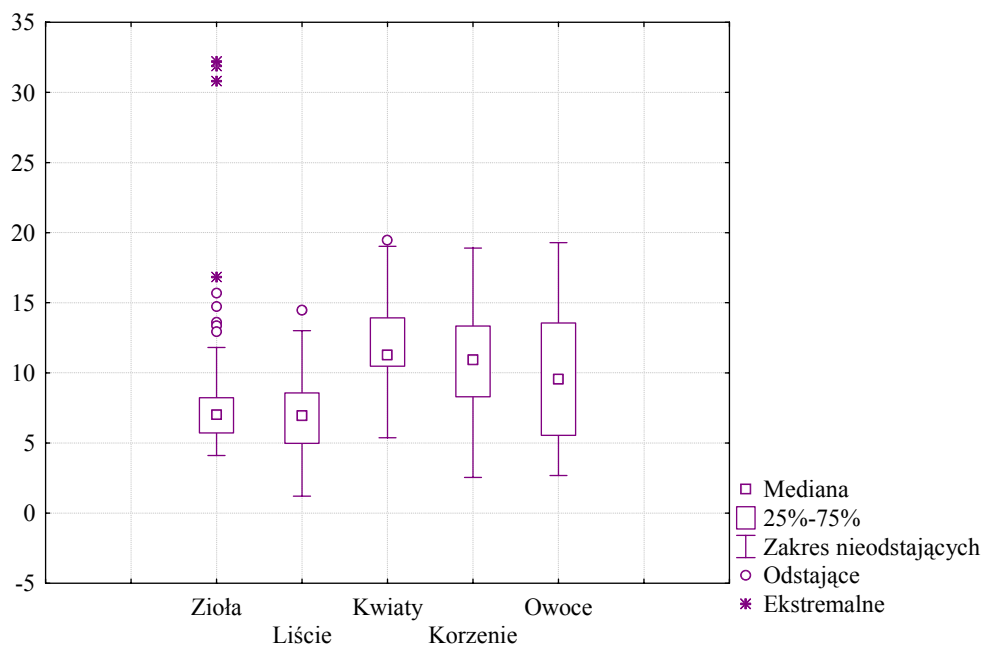
3.1. Wyniki oznaczeń miedzi

Rozpatrując zawartość miedzi w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych stwierdzono, że waha się ona w granicach od kilku do kilkunastu μg w gramie suchej masy surowca. Wartości te są porównywalne do wyników zamieszczanych w pracach innych badaczy, którzy stwierdzili zawartość tego mikroelementu na poziomie 4,47 - 14,08 $\mu\text{g/g}$ s.m. w roślinnych surowcach leczniczych [Ražic i wsp., 2005] oraz 1,77 - 16,4 $\mu\text{g/g}$ s.m. w herbatkach ziołowych [Blicharska i wsp., 2007].

Tabela 18. Statystyka opisowa zawartości analizowanych pierwiastków w poszczególnych grupach roślinnych surowców leczniczych.

Pierwiastek	Parametry statystyczne	Ziola	Liście	Kwiaty	Korzenie	Owoce i nasiona
Miedź	średnia arytmetyczna	8,03	7,05	11,37	10,43	9,57
	odchylenie standardowe	0,24	0,87	0,62	1,07	0,85
	mediana	7,05	6,85	11,73	10,96	9,62
	maksimum	31,63	11,45	18,08	17,44	17,82
	minimum	4,82	1,68	5,42	2,68	2,68
	rozstęp	26,81	9,76	12,66	14,76	15,14
Mangan	średnia arytmetyczna	97,46	137,26	85,26	47,99	46,87
	odchylenie standardowe	3,58	7,05	4,60	3,50	0,69
	mediana	78,54	96,18	76,67	50,14	40,96
	maksimum	253,76	311,68	232,87	89,92	100,25
	minimum	21,03	21,25	30,41	9,75	11,05
	rozstęp	232,73	290,42	202,48	80,18	89,20
Cynk	średnia arytmetyczna	44,82	41,61	28,55	29,18	20,48
	odchylenie standardowe	1,53	2,07	2,23	1,48	1,38
	mediana	44,22	41,23	27,71	21,55	24,26
	maksimum	70,71	78,25	44,58	100,25	38,57
	minimum	20,82	22,05	19,91	4,53	4,38
	rozstęp	49,89	56,20	24,67	95,72	34,19
Żelazo	średnia arytmetyczna	369,62	451,43	274,60	447,27	101,30
	odchylenie standardowe	7,57	6,28	5,09	7,14	3,20
	mediana	217,91	427,51	216,11	311,90	66,38
	maksimum	1495,53	1371,42	1003,17	1288,87	334,64
	minimum	91,95	84,12	114,40	71,06	27,34
	rozstęp	1403,57	1287,30	888,78	1217,81	307,30

Z analizy danych zestawionych w Tabeli 18 oraz przedstawionych graficznie na Rys. 4 wynika, że największym rozrzutem wokół średniej arytmetycznej dla danego rodzaju surowca charakteryzują się zioła. W przypadku reszty surowców wartości są do siebie zbliżone.



Rys. 4. Wykres charakterystyk grupowych dla miedzi w analizowanych surowcach leczniczych.

Najwyższą średnią zawartością miedzi wśród badanych surowców charakteryzują się kwiaty 11,37 $\mu\text{g/g}$ s.m. surowca. Najbogatszym źródłem omawianego pierwiastka jest kwiat arniki (Fl.31), pochodzący z firmy Kawon - Gostyń. Zawiera on 18,08 $\mu\text{g Cu/g}$ s.m. i jest to wartość o ponad połowę wyższa niż w drugiej próbce kwiatu arniki (Fl.30) uzyskanego z tego samego zakładu zielarskiego, 8,27 $\mu\text{g/g}$. Najniższe zaś stężenie opisywanego mikroelementu stwierdzono w kwiecie bławatka Fl.9, pochodzącego z zakładu Herbapol – Bydgoszcz, wynosi ono 5,42 $\mu\text{g/g}$ s.m. surowca.

W grupie korzeni średnia zawartość miedzi wynosi 10,43 $\mu\text{g/g}$. Najzasobniejszy w ten mikroelement jest korzeń arcydzięgla (Ra.1, Herbapol – Lublin). Zawiera on 17,44 $\mu\text{g Cu/g}$ s.m. i tym samym różni się od pozostałych próbek tego surowca pochodzących z innych zakładów zielarskich (Ra.2 - 8,48 $\mu\text{g/g}$; Ra.3 - 11,10 $\mu\text{g/g}$). Natomiast najmniejszą ilością miedzi charakteryzują się korzenie cykorii podróżnika, reprezentowane przez trzy próbki (Ra.16, Ra.17, Ra.18), pochodzące z zakładu zielarskiego Kawon - Gostyń. Zawierają one zbliżone ilości oznaczanego pierwiastka, odpowiednio 2,72, 3,63 i 2,68 $\mu\text{g/g}$ s.m. surowca.

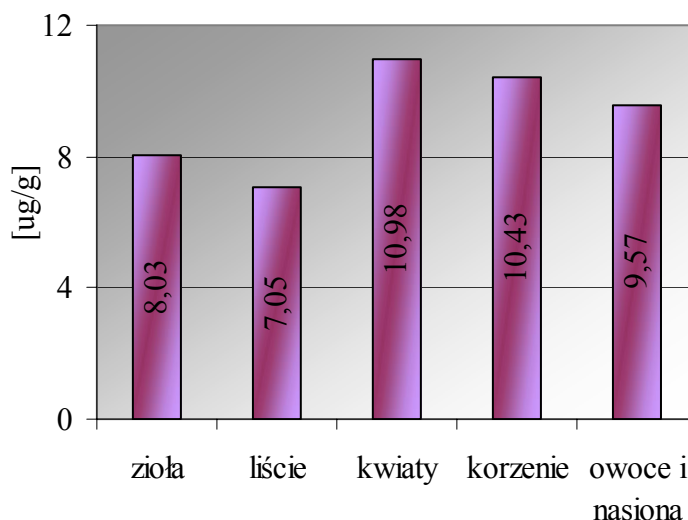
Wśród owoców niezwykle zasobne w miedź są owoce kopru (Fr.12, Kawon – Gostyń), które zawierają 17,82 $\mu\text{g Cu/g}$ s.m. surowca, nieznacznie więcej w porównaniu z pozostałymi próbkami tego samego surowca (Fr.13 - 14,97 $\mu\text{g/g}$; Fr.14 - 13,62 $\mu\text{g/g}$; Fr.15 - 13,71 $\mu\text{g/g}$). Zaś najuboższym źródłem omawianego mikroelementu są owoce jarzębiny (Fr.24) uzyskane z firmy Herbapol - Lublin - 2,68 $\mu\text{g Cu/g}$ i ilość ta jest o połowę mniejsza niż w pozostałych próbkach tego samego surowca: Fr.23 (Kawon - Gostyń) - 5,52 $\mu\text{g/g}$ i Fr.24. (Herbalux Bis- Warszawa) - 5,48 $\mu\text{g/g}$.

Największe zróżnicowanie zawartości miedzi w obrębie tego samego gatunku rośliny zaobserwowano w przypadku ziela tymianku, reprezentowanego przez cztery próbki, pochodzące z różnych zakładów zielarskich. Najwyższa wartość tego mikroelementu wynosi 31,63 $\mu\text{g/g}$ (He.12 - Boguccy - Kraków), zaś najniższa 4,82 $\mu\text{g/g}$ (He.10 - Kawon - Gostyń). W obu przypadkach są to wartości skrajne miedzi w obrębie opisywanej grupy surowców.

Najmniejszą ilość miedzi stwierdzono w liściach (7,05 $\mu\text{g/g}$). Najwięcej analizowanego pierwiastka zawierają liście mięty (Fo.9) - 11,45 $\mu\text{g/g}$, najmniej zaś liście mącznicy (Fo.28) - 1,68 $\mu\text{g/g}$.

Biorąc pod uwagę średnią zawartość miedzi w poszczególnych grupach analizowanych surowców, można je uszeregować w następującej kolejności, co przedstawia graficznie Rys. 5:

kwiaty > korzenie > owoce i nasiona > ziola > liście.



Rys. 5. Średnie arytmetyczne zawartości miedzi w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych.

3.2. Wyniki oznaczeń manganu

Przeprowadzone oznaczenia wykazały, że w porównaniu z pozostałymi pierwiastkami, zawartość manganu w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych jest bardzo wysoka. Źródła literaturowe również wskazują na duże wartości tego mikroelementu, osiągające poziom kilkudziesięciu $\mu\text{g/g}$ s.m. [Lityński i wsp., 1982].

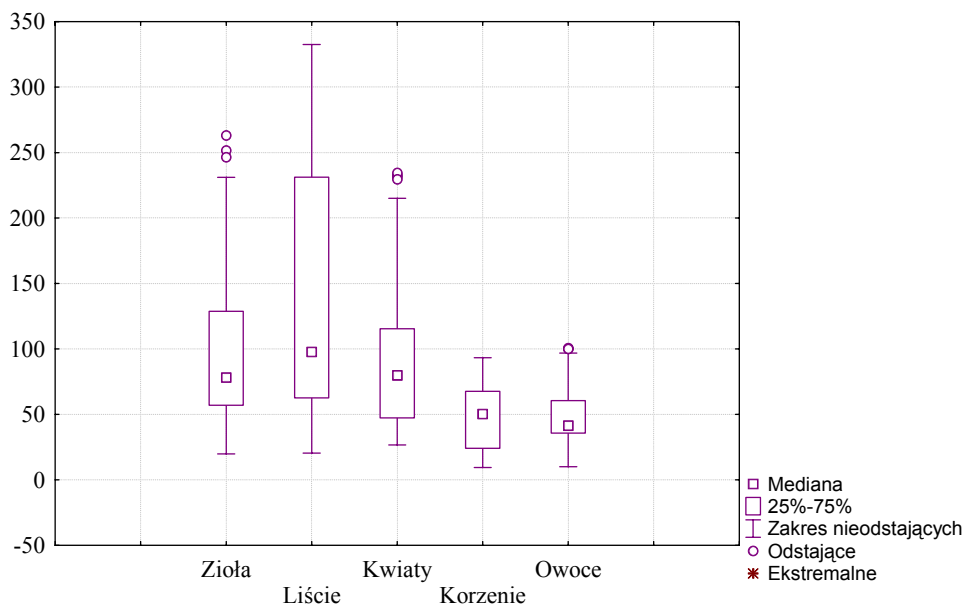
Dane zestawione w Tabeli 18 oraz zobrazowane graficznie na Rys. 6 wskazują, że ilość manganu w poszczególnych grupach surowców jest różna, a ponadto wykazuje duże zróżnicowanie także w obrębie danej grupy surowców. Największym rozrzutem oznaczanego pierwiastka wokół średniej arytmetycznej charakteryzują się liście, następnie zioła i kwiaty, najmniejszym zaś korzenie oraz owoce i nasiona.

Najzasobniejszą w mangan grupą badanych surowców są liście ($137,26 \mu\text{g/g}$ s.m.). Wśród nich największą zawartość tego pierwiastka stwierdzono w liściu jeżyny (Fo.13), pochodzącym z firmy Kawon - Gostyń. Wynosi ona $311,68 \mu\text{g/g}$ s.m. i jest nieznacznie wyższa w porównaniu z ilością manganu w pozostałych próbkach tego samego surowca (Fo.11 - $275,50 \mu\text{g/g}$ s.m.; Fo.12 - $283,83 \mu\text{g/g}$ s.m.; Fo.14 - $278,21 \mu\text{g/g}$ s.m.). Wysoką zawartość manganu prezentują również liście maliny. Analiza czterech próbek uzyskanych z różnych zakładów zielarskich wykazała zbliżony poziom oznaczanego pierwiastka w tych surowcach, mieszczący się w granicach od $231,17$ do $253,66 \mu\text{g/g}$ s.m. surowca. Natomiast liść mącznicy (Fo.27) pochodzący z firmy Herbalux Bis - Warszawa charakteryzuje się najmniejszą zawartością manganu ($21,25 \mu\text{g/g}$ s.m.). Jest to ilość 3 - krotnie niższa niż w drugiej próbce, pochodzącej z firmy Kawon - Gostyń (Fo.28 - $64,67 \mu\text{g/g}$).

Bogatym źródłem manganu są również zioła ($97,46 \mu\text{g/g}$ s.m.). Najwyższym poziomem omawianego pierwiastka charakteryzuje się ziele nawłoci, reprezentowane przez trzy próbki (He.24, He.25, He.26) o zbliżonym stężeniu manganu, wynoszących odpowiednio $210,30$, $201,75$ i $253,76 \mu\text{g/g}$. Najmniejszą zawartość tego pierwiastka stwierdzono natomiast w próbce ziela drapacza uzyskanego z firmy Kawon - Gostyń (He.20 - $21,03 \mu\text{g/g}$ s.m.). Pozostałe próbki ziela drapacza otrzymane z tego samego zakładu zielarskiego prezentują zbliżony poziom manganu (He.21 - $25,24 \mu\text{g/g}$; He.22 - $37,06 \mu\text{g/g}$), o wiele niższy w porównaniu z zawartością manganu w próbce tego samego surowca uzyskanego z zakładu Boguccy - Kraków (He.23 - $90,50 \mu\text{g/g}$).

W grupie analizowanych kwiatów największą ilość manganu stwierdzono w kwiatach rumianku, pochodzących z firmy Kawon - Gostyń (Fl.22 - $232,89 \mu\text{g/g}$; Fl.23 - $218,48 \mu\text{g/g}$). W trzeciej analizowanej próbce tego samego surowca zawartość metalu była niższa, wynosiła

jedynie 62,82 $\mu\text{g/g}$ (Fl.21 - Herbapol - Bydgoszcz). Najuboższym źródłem manganu okazał się kwiat nagietka (Herbapol - Bydgoszcz, Fl.14 - 30,41 $\mu\text{g/g}$). Pozostałe próbki tego surowca prezentowały zmienne wartości omawianego pierwiastka, mieszczące się w granicach od 31,93 do 96,60 $\mu\text{g/g}$ s.m. surowca.



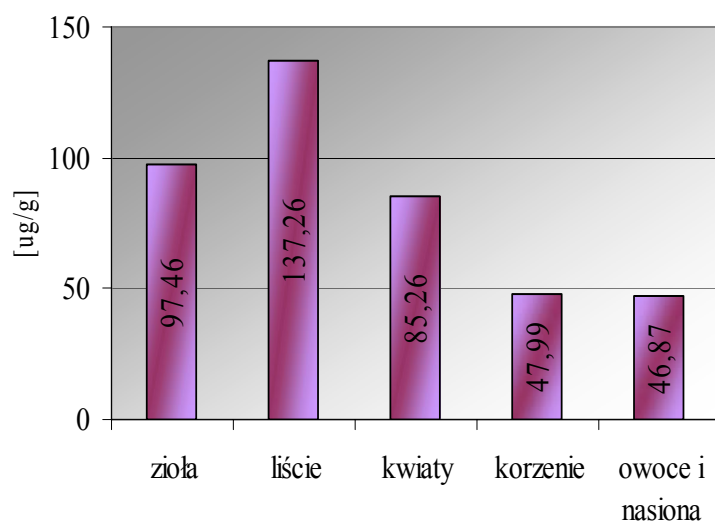
Rys. 6. Wykres charakterystyk grupowych dla manganu w analizowanych surowcach leczniczych.

Korzenie oraz owoce i nasiona charakteryzują się najmniejszą ilością manganu spośród wszystkich badanych surowców. Średnia zawartość tego metalu wynosi w nich odpowiednio 47,99 i 46,87 $\mu\text{g/g}$. W grupie korzeni największą ilość tego mikroelementu stwierdzono w korzeniu arcydzięgla (Ra.2, 89,92 $\mu\text{g/g}$, Herbapol - Bydgoszcz), najmniejszą zaś w korzeniu pięciornika kurze ziele (Ra.19, 9,75 $\mu\text{g/g}$, Herbapol - Lublin). W przypadku owoców i nasion, najbogatszym w mangan surowcem okazał się owoc jarzębiny otrzymany z firmy Herbapol - Lublin (Fr.24, 100,25 $\mu\text{g/g}$), a najuboższym owoc głogu z tego samego zakładu (Fr.20, 11,05 $\mu\text{g/g}$).

Biorąc pod uwagę średnią zawartość manganu w poszczególnych grupach badanych surowców roślinnych, można je uszeregować w kolejności różnej od tej, którą stwierdzono dla miedzi:

liście > ziola > kwiaty > korzenie > owoce i nasiona.

Powyższą zależność obrazuje Rys. 7, z którego wynika, że korzenie oraz owoce i nasiona w porównaniu z pozostałymi grupami surowców stanowią ubogie źródło manganu.



Rys. 7. Średnie arytmetyczne zawartości manganu w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych.

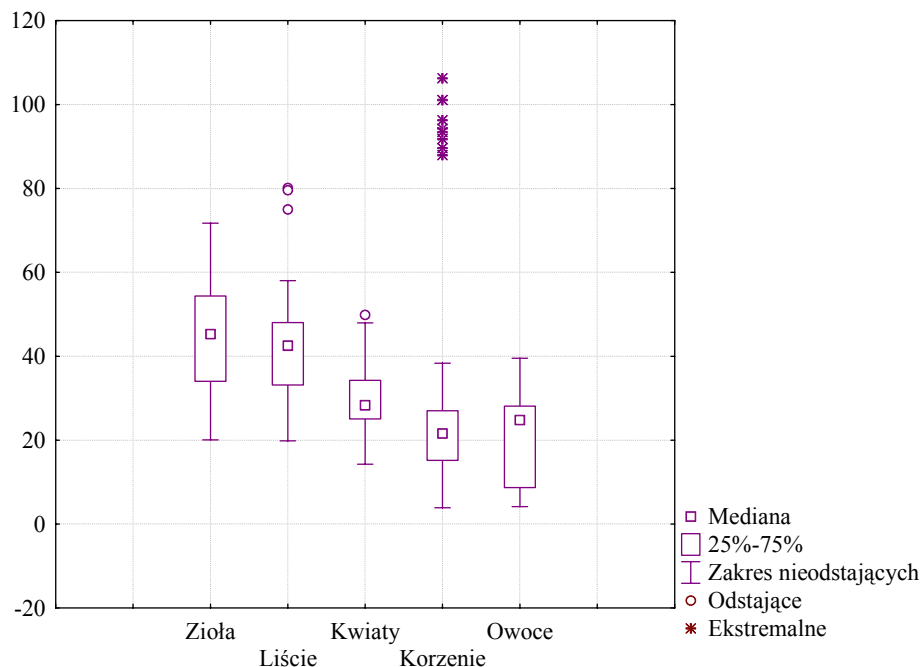
3.3. Wyniki oznaczeń cynku

W efekcie analizy wyników oznaczeń cynku we wszystkich próbkach roślinnych surowców leczniczych stwierdzono, że zawartość tego pierwiastka oscyluje w granicach od kilku do kilkunastu lub kilkudziesięciu µg w gramie suchej masy surowca, jak również, że poza nielicznymi wyjątkami jego ilość w ziołach i liściach jest średnio o połowę wyższa niż w pozostałych surowcach. Ponadto, dane przedstawione w Tabeli 18 i zobrazowane graficznie na Rys. 8 wskazują, że największym rozrzutem wokół średniej arytmetycznej dla danego rodzaju surowca charakteryzują się korzenie, następnie liście i zioła, najmniejszym zaś kwiaty oraz owoce i nasiona.

Bogatym źródłem cynku, podobnie jak i manganu, wśród badanych surowców są zioła (44,82 µg/g). Największą ilość oznaczanego pierwiastka stwierdzono w próbce ziela macierzanki (He.16), pochodzącej z firmy Herbapol - Kraków. Wynosi ona 70,71 µg/g i jest wyższa w porównaniu z pozostałymi próbkami tego samego surowca, pochodzącymi z zakładu zielarskiego Kawon - Gostyń (He.17 - 53,87 µg/g; He.18 - 58,44 µg/g; He.19 - 43,88 µg/g).

Najuboższym w oznaczany mikroelement surowcem wśród ziół jest ziele drapacza (He.20, Kawon – Gostyń) Zawiera ono 20,82 µg Zn/g. Ponadto, spośród czterech analizowanych próbek, zawartość cynku w trzech z nich mieści się w zbliżonych do siebie

granicach (He.20 - 20,82 $\mu\text{g/g}$; He.21 - 22,63 $\mu\text{g/g}$; He.22 - 35,87 $\mu\text{g/g}$), w czwartej zaś jest średnio o połowę wyższa (He.23 - 62,28 $\mu\text{g/g}$). Uzasadnieniem tego jest z pewnością fakt, że próbka ta pochodzi z innego zakładu zielarskiego niż pozostałe (He.23, Boguccy - Kraków).



Rys. 8. Wykres charakterystyk grupowych dla cynku w analizowanych surowcach leczniczych.

Oprócz ziół zasobnym źródłem cynku są również liście. W grupie tej najwyższe stężenie omawianego pierwiastka zaobserwowano w liściu mącznicy (Fo.28) otrzymanym z firmy Kawon-Gostyń. Wynosi ono 78,25 $\mu\text{g/g}$ i jest o ponad połowę wyższe w porównaniu z próbką pochodzącą z zakładu zielarskiego Herbalux Bis – Warszawa, Fo.27 - 33,36 $\mu\text{g/g}$. Stosunkowo niskie ilości cynku stwierdzono w liściach poziomki, reprezentowanych przez trzy próbki, pochodzące z dwóch zakładów zielarskich i posiadające zbliżoną zawartość oznaczanego mikroelementu (Fo.4 - 22,05 $\mu\text{g/g}$; Fo.5 - 32,21 $\mu\text{g/g}$; Fo.6 - 26,39 $\mu\text{g/g}$).

Interesującą pod względem zawartości cynku jest grupa korzeni. Pomimo tego, że średnie stężenie badanego mikroelementu wynosi 29,18 $\mu\text{g/g}$, zaobserwowano w niej duży rozrzut zawartości cynku w poszczególnych surowcach. Najbogatsze źródło analizowanego pierwiastka stanowią korzenie pięciornika kurze ziele (Ra.19, Ra.20, Ra.21), zawierające odpowiednio 89,77; 97,20 i 100,25 $\mu\text{g Zn/g}$, co pozwala wnioskować o dużej zawartości tego metalu w omawianym surowcu. Najuboższym zaś w cynk surowcem jest korzeń lukrecji (Ra.23), otrzymany z firmy Herbapol - Lublin. Jego średnie stężenie wynosi jedynie 4,53

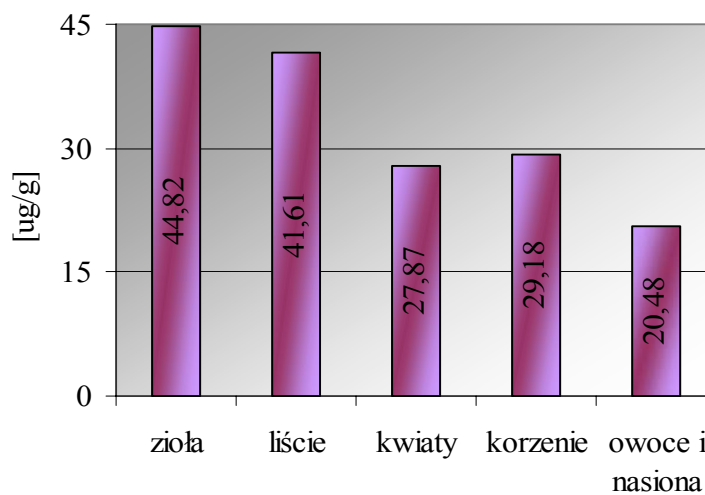
$\mu\text{g/g}$ i jest o ponad 22 razy niższe niż w korzeniu pięciornika kurze ziele. W drugiej próbkę korzenia lukrecji (Ra.22, Herbalux - Warszawa), zawartość cynku wynosi $8,85 \mu\text{g/g}$, co również stanowi wartość o wiele niższą w porównaniu korzeniem pięciornika.

W grupie badanych kwiatów średnia zawartość cynku wynosi $28,55 \mu\text{g/g}$. Największą ilością tego pierwiastka charakteryzuje się kwiat nagietka (Fl.13, $44,58 \mu\text{g/g}$), najmniejszą zaś kwiat lawendy (Fl.8, $19,91 \mu\text{g/g}$).

Najuboższe źródło cynku stanowią owoce i nasiona ($20,48 \mu\text{g/g}$). Wśród nich największe stężenie tego pierwiastka reprezentują nasiona lnu uzyskane z Herbapolu - Lublin i Elandy - Rozprza (Se.26 - $34,01 \mu\text{g/g}$; Se.27 - $38,57 \mu\text{g/g}$), zaś najmniejsze - owoce jarzębiny (Fr.25) z firmy Herbalux Bis - Warszawa. Wynosi ono $4,38 \mu\text{g/g}$ i jest nieznacznie niższe od wartości w pozostałych próbkach tego surowca (Fr.23, Kawoń – Gostyń, $7,87 \mu\text{g/g}$ i Fr.24, Herbapol – Lublin, $6,71 \mu\text{g/g}$).

Biorąc pod uwagę średnią zawartość cynku w poszczególnych grupach badanych surowców, można je uszeregować w sposób zbliżony do zawartości manganu, co odzwierciedla Rys. 9:

ziola > liście > korzenie > kwiaty > owoce i nasiona.



Rys. 9. Średnie arytmetyczne zawartości cynku w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych.

3.4. Wyniki oznaczeń żelaza

Zawartość żelaza w analizowanych surowcach roślinnych kształtuje się na poziomie od 101,30 $\mu\text{g/g}$ s.m (w owocach i nasionach) do 451,43 $\mu\text{g/g}$ s.m. (w liściach). Są to wartości porównywalne z danymi literaturowymi w których stwierdzono, że przeciętna ilość tego pierwiastka w roślinach waha się w granicach od 100 do 300 $\mu\text{g/g}$ s.m., przy czym w zielonych częściach roślin zaobserwowano większą ilość żelaza (100 - 800 $\mu\text{g/g}$ s.m.), zaś w korzeniach, bulwach i nasionach mniejszą [Lityński i wsp., 1982].

Jak wynika z danych zamieszczonych w Tabeli 18 i przedstawionych na Rys. 10, największym rozrzutem wokół średniej arytmetycznej dla danego rodzaju surowca charakteryzują się zioła, następnie liście, korzenie i kwiaty, najmniejszym zaś owoce i nasiona.

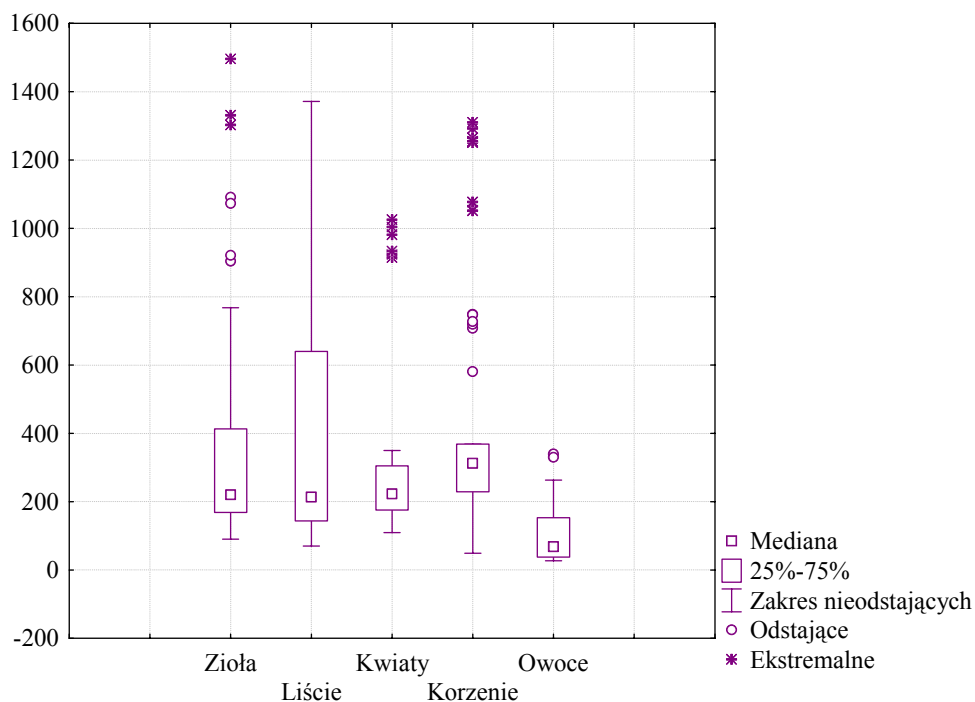
Najbogatszym źródłem żelaza wśród badanych surowców są liście (451,43 $\mu\text{g/g}$). Najwyższe stężenie tego pierwiastka zaobserwowano w próbce liścia majeranku (Fo.29), otrzymanej z zakładu zielarskiego Herbapol - Łódź (1371,42 $\mu\text{g/g}$). Najmniejszą ilość analizowanego mikroelementu stwierdzono zaś w próbce liścia mącznicy (Fo.28, Kawon - Gostyń). Zawiera ona 84,12 $\mu\text{g Fe/g}$, przy czym drugą próbkę tego samego surowca pochodzącą z Herbalux Bis - Warszawa, charakteryzuje już wyższa ilość tego metalu (Fo.27 - 130,85 $\mu\text{g/g}$).

Oprócz liści duże ilości żelaza stwierdzono także w korzeniach (447,27 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Wśród nich najzasobniejszym w ten mikroelement surowcem jest korzeń arcydzięgla (Ra.3, Kawon - Gostyń). Zawiera on 1288,87 $\mu\text{g Fe/g}$ i jest to wartość ponad trzykrotnie wyższa niż w próbkach tego samego surowca otrzymanych z innych zakładów zielarskich (Ra.1, Herbapol - Lublin, 351,29 $\mu\text{g/g}$; Ra.2, Herbapol - Bydgoszcz, 343,40 $\mu\text{g/g}$). Równie bogatym źródłem żelaza jest korzeń lubczyka. W trzech analizowanych próbkach pochodzących z firmy Kawon - Gostyń, ilość analizowanego metalu kształtowała się na poziomie: Ra.10 - 1064,29 $\mu\text{g/g}$; Ra.11 - 1252,68 $\mu\text{g/g}$; Ra.12 - 733,25 $\mu\text{g/g}$.

Najmniejszą ilość żelaza wykryto natomiast w korzeniu cykorii podróżnika (Ra.18, Kawon - Gostyń, 1,06 $\mu\text{g/g}$). Pozostałe próbki korzenia cykorii z tego samego zakładu zielarskiego (Ra.16 i Ra.17) charakteryzowały się większymi stężeniami tego pierwiastka, wynoszącymi odpowiednio 281,97 i 292,69 $\mu\text{g/g}$.

W grupie ziół średnia zawartość żelaza wynosi 369,62 $\mu\text{g/g}$ s.m. surowca. Najzasobniejszym źródłem omawianego pierwiastka jest ziele tymianku (He.12, Boguccy - Kraków). Zawiera ono 1495,53 $\mu\text{g Fe/g}$ s.m., przy czym ilość tego metalu w pozostałych

próbkach tego samego surowca, pochodzących z różnych zakładów zielarskich (He.9, He.10, He.11) jest już niższa i wynosi odpowiednio: 751,36, 912,56 i 424,94 $\mu\text{g/g}$ s.m. Wysoką zawartość żelaza prezentuje także ziele majeranku. W dwóch z trzech analizowanych próbek, pochodzących z firmy Herbapol - Bydgoszcz, wartość ta kształtuje się na poziomie: He.13 - 1073,08 $\mu\text{g/g}$; He.14. - 1316,08 $\mu\text{g/g}$. Zaś trzeci surowiec (He.15), otrzymany z zakładu Kawon – Gostyń, zawiera mniejszą ilość żelaza, równą 610,48 $\mu\text{g/g}$ s.m. surowca.



Rys. 10. Wykres charakterystyk grupowych dla żelaza w analizowanych surowcach leczniczych.

Najniższe stężenie żelaza w grupie analizowanych surowców stwierdzono w ziele nawłoci (He.26), pochodzącym z zakładu Kawon – Gostyń, 91,95 $\mu\text{g/g}$. W porównaniu z pozostałymi próbkami ziela nawłoci ilość ta była nieznacznie niższa: He.24, 97,02 $\mu\text{g/g}$, Herbapol - Bydgoszcz; He.25, 175,99 $\mu\text{g/g}$, Kawon - Gostyń.

Wśród analizowanych kwiatów średnia zawartość żelaza kształtuje się na poziomie 274,60 $\mu\text{g/g}$ s.m. surowca. Najzasobniejszym w ten mikroelement surowcem jest kwiat lawendy (Fl.6, Boguccy – Kraków, 1003,17 $\mu\text{g/g}$). Pozostałe próbki (Fl.7, Herbapol - Kraków i Fl.8, Kawon - Gostyń) zawierają kolejno: 221,78 i 923,52 $\mu\text{g Fe/g}$ s.m. surowca.

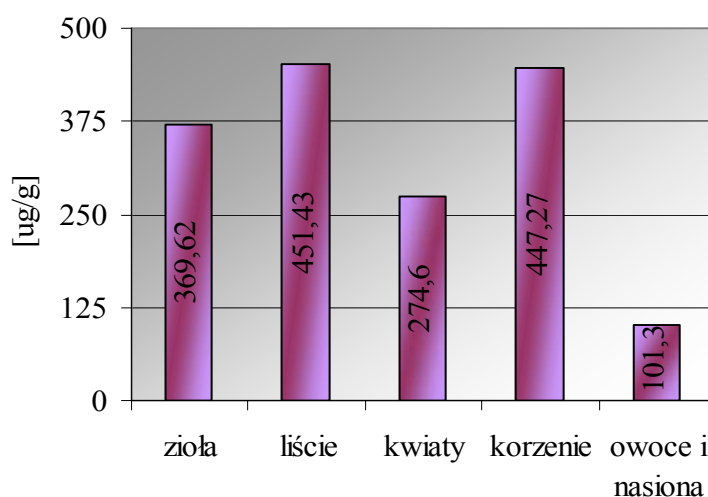
Owoce i nasiona charakteryzują się najmniejszą zawartością żelaza spośród wszystkich badanych surowców (101,30 $\mu\text{g/g}$). Najbogatsze w ten pierwiastek są owoce

anyżu. Trzy analizowane próbki otrzymane z firmy Kawon - Gostyń (Fr.1, Fr.2, Fr.3) zawierają odpowiednio 334,64, 253,96 i 199,17 $\mu\text{g Fe/g}$. Najmniej analizowanego mikroelementu zawierają natomiast owoce jarzębiny (Fr.25), Herbalux Bis – Warszawa, 27,34 $\mu\text{g/g}$.

Biorąc pod uwagę średnią zawartość żelaza w poszczególnych grupach badanych surowców roślinnych, można je uszeregować w następującej kolejności tak, jak to przedstawia Rys. 11:

liście > korzenie > ziola > kwiaty > owoce i nasiona.

Owoce i nasiona, podobnie jak w przypadku manganu i cynku, stanowią najuboższe źródło omawianego pierwiastka.



Rys. 11. Średnie arytmetyczne zawartości żelaza w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych.

4. Porównanie zawartości pierwiastków w surowcach pochodzących od tego samego gatunku rośliny

W czterech przypadkach zawartość selenu, miedzi, manganu, cynku i żelaza oznaczono w surowcach pochodzących z tego samego gatunku rośliny leczniczej a uzyskane wyniki zestawiono w Tabela 19.

Tabela 19. Zawartość selenu, miedzi, manganu, cynku i żelaza w wybranych surowcach leczniczych.

Nazwa surowca	Numer próbki	Producent	Średnia zawartość [µg/g]				
			Se*	Cu	Mn	Zn	Fe
<i>Herba Melissa</i> (ziele melisy)	He.1	Herbapol - Bydgoszcz	19,29	6,79	73,90	26,52	637,18
	He.2	Kawon - Gostyń	26,67	7,24	52,79	25,50	341,88
<i>Folium Melissa</i> (liść melisy)	Fo.1	Herbapol - Kraków	8,45	6,79	118,91	40,04	788,90
	Fo.2	Kawon - Gostyń	17,30	7,96	62,15	28,60	710,78
	Fo.3	Boguccy - Kraków	21,04	8,18	48,06	38,30	209,53
<i>Herba Millefolii</i> (ziele krwawnika)	He.3	Herbapol - Bydgoszcz	24,71	8,19	90,48	46,52	328,14
	He.4	Kawon - Gostyń	-	6,86	76,10	37,99	169,76
	He.5	Boguccy - Kraków	9,40	6,34	63,03	31,40	157,83
<i>Flos Millefolii</i> (kwiat krwawnika)	Fl.1	Herbapol - Lublin	17,56	16,68	151,44	38,82	281,49
	Fl.2		4,95	14,62	114,78	23,93	187,42
	Fl.3	Kawon - Gostyń	6,44	15,77	58,80	23,95	117,47
	Fl.4		18,34	17,51	127,82	27,71	139,90
<i>Herba Majoranae</i> (ziele majeranku)	He.13	Herbapol - Bydgoszcz	63,04	7,05	52,63	42,23	1073,08
	He.14		86,16	7,87	54,82	44,22	1316,08
	He.15	Kawon - Gostyń	3,82	6,91	78,54	32,08	610,48
<i>Folium Majoranae</i> (liść majeranku)	Fo.29	Herbapol - Łódź	40,31	10,19	89,02	30,91	1371,42
<i>Flos Crataegi</i> (kwiat głogu)	Fl.27	Herbapol - Bydgoszcz	11,25	13,86	50,74	38,88	282,14
	Fl.28	Kawon - Gostyń	22,39	10,93	49,85	26,59	159,89
	Fl.29		19,90	14,02	58,68	26,19	223,19
<i>Fructus Crataegi</i> (owoc głogu)	Fr.19	Herbapol - Bydgoszcz	76,88	5,47	26,51	9,44	35,72
	Fr.20	Herbapol - Lublin	45,79	5,56	11,05	8,07	34,54
	Fr.21	Kawon - Gostyń	49,95	8,05	14,31	8,86	35,27
	Fr.22	Herbalux Bis - Warszawa	25,79	5,56	16,27	6,81	48,96

* stężenie selenu wyrażono w ng/g s.m. surowca

Próbki ziela melisy w stosunku do liści tego samego gatunku rośliny charakteryzują się porównywalną ilością miedzi, oscylującą w granicach od 6,79 do 7,24 $\mu\text{g/g}$ (ziola) oraz od 6,79 do 7,96 $\mu\text{g/g}$ (liście). Jedynie próbka liścia melisy otrzymana z firmy Boguccy - Kraków reprezentuje wyższe stężenie omawianego pierwiastka (Fo.3, 8,18 $\mu\text{g/g}$). W przypadku manganu średnia zawartość tego pierwiastka również jest zbliżona i wynosi: 52,79 - 73,90 $\mu\text{g/g}$ (ziola) i 48,06 - 62,15 $\mu\text{g/g}$ (liście). Wyjątek stanowi próbka liścia melisy uzyskana z firmy Herbapol - Kraków (Fo.1), w której stężenie manganu jest wyższe - 118,91 $\mu\text{g/g}$. Porównując poziom selenu w obu surowcach stwierdzono, że zawierają one podobne ilości tego pierwiastka od 19,29 do 26,67 ng Se/g, wyjątek stanowi próbka Fo.1 – 8,45 ng/g (Kawon – Gostyń).

Z kolei liście melisy są bogatszym źródłem cynku (28,60 - 40,04 $\mu\text{g/g}$), jak również zawierają więcej żelaza (710,78 - 788,90 $\mu\text{g/g}$) w porównaniu z próbkami analizowanych ziół (Zn: 25,50 - 26,52 $\mu\text{g/g}$; Fe: 341,88 - 637,87 $\mu\text{g/g}$). Jedynie próbka liścia melisy pochodząca z firmy Boguccy - Kraków charakteryzuje się mniejszą zawartością żelaza (Fo.3 - 209,53 $\mu\text{g/g}$).

Porównując zawartość pierwiastków w próbkach ziół i kwiatów krwawnika stwierdzono, że kwiaty tego gatunku stanowią bogatsze źródło miedzi i manganu niż ziola. Średnie stężenie analizowanych pierwiastków kształtuje się w nich na poziomie od 14,62 do 17,51 $\mu\text{g/g}$ s.m. (dla miedzi) oraz od 114,78 do 151,44 $\mu\text{g/g}$ s.m. (dla manganu). Jedynie w jednej z próbek kwiatu krwawnika, pochodzącej z zakładu zielarskiego Kawon – Gostyń, ilość manganu była o wiele niższa niż w pozostałych próbkach (F1.3 - 58,80 $\mu\text{g/g}$). Poziom selenu w ziele i kwiecie krwawnika jest zróżnicowany, zależny od pochodzenia próbki i wynosi od 9,40 do 24,71 ng/g dla ziela oraz od 4,96 do 18,34 ng/g dla kwiatu krwawnika.

Ziele krwawnika charakteryzuje się natomiast wyższą zawartością cynku, mieszczącą się w granicach od 31,40 do 46,52 $\mu\text{g/g}$ (w kwiatach ilość cynku osiąga poziom od 23,93 do 38,82 $\mu\text{g/g}$). W przypadku żelaza ilości oznaczane w poszczególnych próbkach są bardzo różne i mieszczą się w granicach od 157,83 do 328,14 $\mu\text{g/g}$ (ziele krwawnika) oraz od 117,47 do 281,49 $\mu\text{g/g}$ (kwiaty krwawnika).

W przypadku ziela i liścia majeranku zaobserwowano, że stężenie selenu w ziele jest znacznie wyższe niż liściu i wynosi od 63,04 do 86,16 ng/g. Wyjątek stanowi próbka ziela He.15 (Kawon – Gostyń). Liście natomiast zawierają większe ilości miedzi (10,19 $\mu\text{g/g}$), manganu (89,02 $\mu\text{g/g}$) i żelaza (1371,42 $\mu\text{g/g}$), niż ziola (Cu, 6,91 - 7,87 $\mu\text{g/g}$; Mn, 52,63 - 78,54 $\mu\text{g/g}$; Fe, 610,48 - 1073,08 $\mu\text{g/g}$). Z kolei próbki ziela majeranku są bardziej zasobne w cynk (32,08 - 44,22 $\mu\text{g/g}$) w porównaniu z liśćmi (30,91 $\mu\text{g/g}$).

Porównując kwiaty i owoce głogu wykazano, że kwiaty tego gatunku reprezentują o wiele wyższy poziom wszystkich oznaczanych pierwiastków (Cu, 10,93 - 14,02 $\mu\text{g/g}$; Mn, 49,85 - 58,68 $\mu\text{g/g}$; Zn, 26,19 - 38,88 $\mu\text{g/g}$; Fe, 159,89 - 282,14 $\mu\text{g/g}$). Stężenie selenu w owocach głogu było natomiast wyższe w porównaniu z kwiatami, jest to zgodne z danymi zamieszczonymi Tabeli 17 i na Rys. 2, z których wynika, że owoce są bogatsze w selen niż kwiaty.

5. Zależności pomiędzy oznaczanymi pierwiastkami w analizowanych grupach surowców

Technika korelacji jest narzędziem statystycznym służącym do określania stopnia, w jakim dwie zmienne są ze sobą powiązane. Dwie zmienne mogą być pomiędzy sobą powiązane zależnością funkcyjną lub zależnością statystyczną (korelacyjną). Związek statystyczny polega na tym, że określonym wartością jednej zmiennej odpowiadają ściśle określone średnie wartości drugiej zmiennej.

Siłę współzależności dwóch zmiennych można wyrazić liczbowo za pomocą wielu mierników. Najbardziej popularny jest współczynnik korelacji liniowej Pearsona. Współczynnik ten przyjmuje wartości z przedziału od -1 do 1 i jest miarą siły związku prostoliniowego między dwiema cechami. Znak współczynnika korelacji informuje o kierunku korelacji, natomiast jego bezwzględna wartość o sile związku.

Interpretacja danych zestawionych Tabeli 20 wykazała, że w nielicznych przypadkach występują wprost i odwrotnie proporcjonalne zależności pomiędzy oznaczanymi pierwiastkami, określane jako dodatnie jak i ujemne korelacje.

W grupie ziół zanotowano dodatnią korelację pomiędzy Cu i Mn, Fe i Cu oraz Mn i Zn. W pierwszym i drugim przypadku była to korelacja przeciętna, w trzecim zaś - wysoka. Korelacja Cu-Mn jest porównywalna z korelacją podaną w piśmiennictwie, zgodnie z którym w których współczynnik korelacji liniowej dla pary Cu-Mn jest równy 0,3060 [Ražic i wsp., 2005].

Wśród liści stwierdzono trzy korelacje dodatnie i jedną ujemną. Dodatnie korelacje o niskiej wartości współczynnika r występowały pomiędzy Mn-Zn i Fe-Zn, natomiast korelację wysoką reprezentowała para Fe-Cu. Uzyskane wyniki są zgodne z danymi literaturowymi [Koniecznyński i wsp., 2007]. Ujemna korelacja występowała natomiast w parze Fe-Mn.

Tabela 20. Współczynniki korelacji liniowej pomiędzy oznaczanymi pierwiastkami w analizowanych surowcach.

Rodzaj surowca	Cu-Mn	Cu-Zn	Mn-Zn	Fe-Cu	Fe-Zn	Fe-Mn	Se-Cu	Se-Mn
Ziola	0,3388	0,1817	0,5230	0,4683	-0,1900	0,0656	0,1307	-0,1887
Liście	0,2372	0,2247	0,3413	0,5169	0,3074	-0,3883	0,2894	-0,2950
Kwiaty	0,0125	0,1444	0,3325	-0,2098	-0,1230	-0,0970	0,1446	-0,1557
Korzenie	0,0175	0,01978	0,1847	0,3745	-0,2585	0,2440	-0,7292	-0,0683
Owoce i nasiona	0,0370	0,8757	0,0895	0,3509	0,5059	0,2752	0,1931	-0,4862

W grupie kwiatów i korzeni zaobserwowano korelacje dodatnie w parach Mn-Zn (kwiaty) i Fe-Cu (korzenie). Ponadto w analizowanej grupie owoców i nasion zanotowano korelację bardzo wysoką pomiędzy Cu i Zn, korelację wysoką między Fe i Zn oraz korelację w parze pierwiastków Fe-Cu. Dwie ujemne korelacje stwierdzono w parach Se-Cu (korzenie) oraz Se-Mn (owoce i nasiona).

Znalezienie wzajemnych relacji pomiędzy pierwiastkami tj. miedź, mangan, cynk, żelazo i selen jest trudne ze względu na różne mechanizmy absorpcji tych pierwiastków przez rośliny oraz różne szlaki dystrybucji w roślinach do ich części anatomicznych.

6. Analiza głównych składowych

Metodę głównych składowych (*Principal Components Analysis*) użyto do interpretacji danych uzyskanych z badań nad zawartością selenu i pierwiastków metalicznych w roślinnych surowcach leczniczych. Analizie poddano pięć macierzy o wymiarach $n \times p$, gdzie n stanowi liczbę obserwacji (wierszy), p jest liczbą zmiennych (kolumn). Próbkę ziół, liści, kwiatów, korzeni oraz owoców i nasion stanowią wiersze, natomiast średnie zawartości selenu, miedzi, manganu, cynku i żelaza są kolumnami.

Wyniki obliczeń PCA przedstawiono Tabeli 21. Zestawiono w niej wymiary macierzy dla badanych grup surowców, wartości własne, procent wariancji wyjaśnionej przez trzy pierwsze główne składowe.

Z danych zestawionych w Tabeli 21 wynika, że PC1 największą część zmienności wyjaśnia w owocach i nasionach (44,76% wariancji), a następnie w grupie liści i korzeni. Duży udział w wyjaśnianiu zmienności próbek z grupy owoców i nasion oraz ziół bierze

także druga główna składowa (ponad 31% wariancji). Trzecia główna składowa wyjaśnia ponad 17% zmienności we wszystkich grupach surowców z wyjątkiem owoców i nasion. PC1 i PC2 opisują łącznie ponad 60% badanej zmienności w korzeniach, ziołach i liściach natomiast w grupie owoców i nasion 76,15% zmienności badanej. W związku z powyższym rozmieszczenie przestrzenne próbek w poszczególnych grupach surowców przedstawiono w układzie dwuwymiarowym (PC1 vs PC2). W układzie dwuwymiarowym przedstawiono również wykresy odzwierciedlające wpływ zmiennych oryginalnych na dwie pierwsze główne składowe (W1 vs W2).

Tabela 21. Wyniki obliczeń PCA w roślinnych surowcach leczniczych.

Surowiec	Wymiary macierzy n x p	Wartości własne			Wariancja [%]			Skumulowana wariancja [%]	
		PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3	PC1 i PC2	PC1, PC2 i PC3
Ziola	37 x 5	1,77	1,55	0,92	35,46	31,03	18,45	66,49	84,95
Liście	29 x 5	2,16	0,94	0,86	43,20	18,95	17,17	62,16	79,33
Kwiaty	32 x 5	1,62	1,15	0,89	32,52	23,01	17,75	55,53	73,28
Korzenie	23 x 5	2,05	1,28	1,05	41,76	25,61	21,05	66,69	87,74
Owoce i nasiona	27 x 5	2,24	1,57	0,59	44,76	31,39	11,91	76,15	88,06

6.1. PCA ziół

Na Rys. 12, przedstawiającym rozmieszczenie próbek ziół w dwuwymiarowym układzie PC1 vs PC2 można zauważyć, że większość próbek została zlokalizowana centralnie z prawej strony wykresu. W lewym górnym rogu znajduje się próbka ziela tymianku (He.12), przyjmując najbardziej ujemne wartości PC1 ze względu na bardzo wysokie stężenie miedzi, a także dodatnie wartości PC2 z uwagi na dużą zawartość żelaza. Surowiec ten reprezentują jeszcze trzy próbki (He.9 – He.11), które są przesunięte w prawą stronę, ku centrum wykresu, z powodu niższych stężeniem miedzi i żelaza.

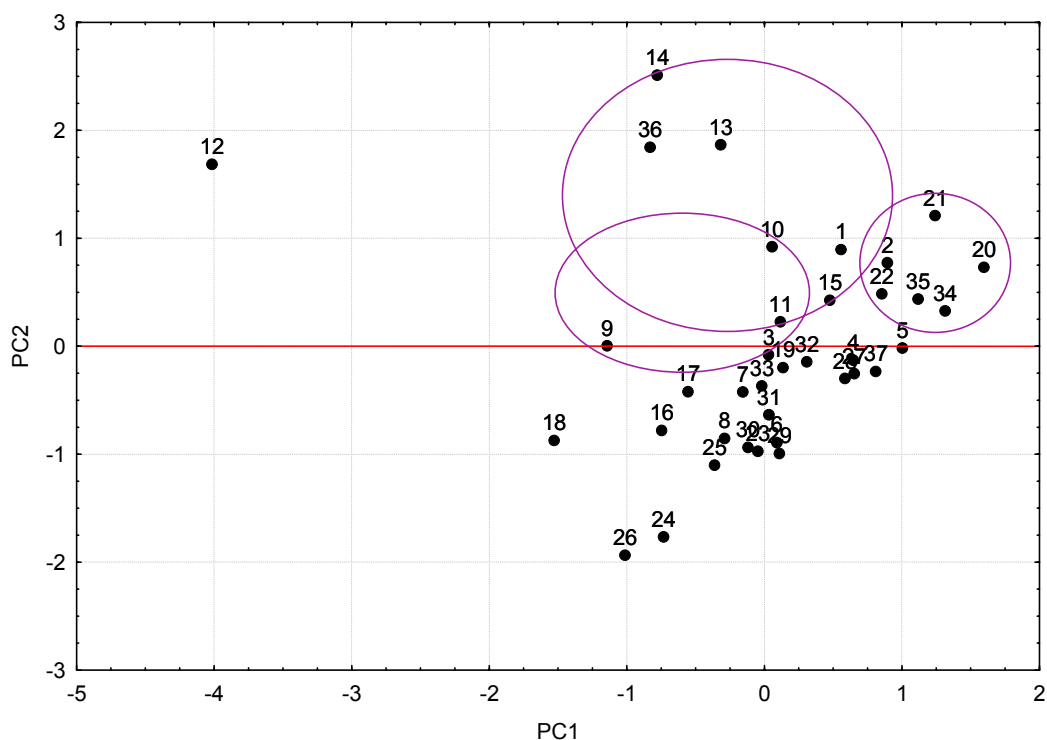
Ziele skrzypu reprezentowane jest przez dwie próbki, He.36 i He.37. Położenie próbek zostało zróżnicowane, zarówno przez wartość PC1 jak i PC2 ze względu na wysokie stężenie selenu oraz wyższą zawartość miedzi i żelaza w próbce He.36.

W przypadku ziela drapacza próbki He.20 – He.22 zlokalizowane są w zakresie wyższych wartości PC1 i PC2 niż próbka He.23 ze względu na to, iż wykazuje ona 3-4

krotnie wyższe stężenie manganu i 2-3 krotni wyższy poziom cynku w porównaniu z pozostałymi próbkami.

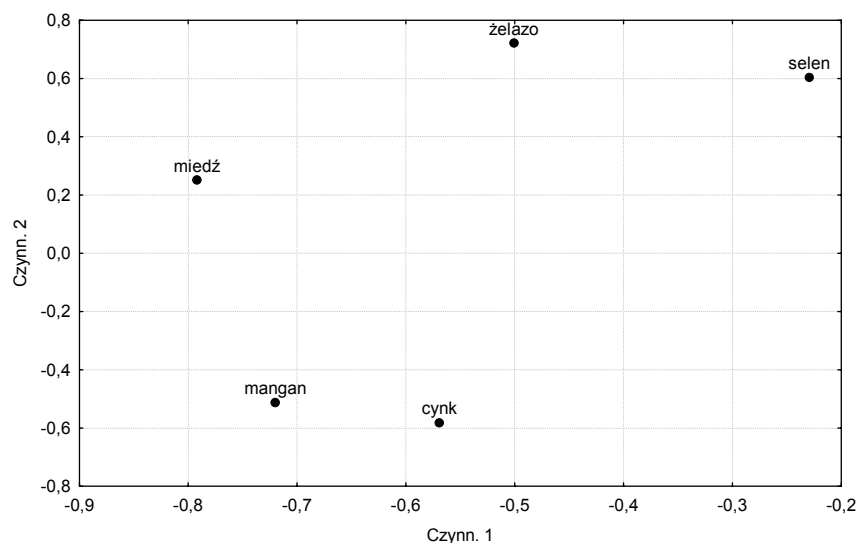
Ziele majeranku reprezentują trzy próbki (He.13 – He.15). Dwie z nich znajdują się w górnej części wykresu wyróżniając się wyższym stężeniem selenu i żelaza w porównaniu z trzecią próbką He.15.

Wiele surowców należących do grupy ziół nie zostało zróżnicowanych ani przez pierwszą, ani przez drugą główną składową i zajmuje pozycje w centralnej części wykresu.



Rys. 12. Wykres PC1 względem PC2 dla ziół.

Z analizy wartości ładunków głównych składowych przedstawionych na Rys. 13 wynika, że wartości pierwszej głównej składowej są zdeterminowane ujemnie przez wysokie stężenie miedzi. Główny ciężar ładunku PC2 w ziołach jest zdeterminowany przez żelazo i selen. Mangan i cynk są pierwiastkami które w podobny stopniu wpływają na obie główne składowe.



Rys. 13. Wykres ładunków głównych komponentów dla ziół.

6.2. PCA liści

Z analizy Rys. 14, przedstawiającego rozmieszczenie próbek liści w dwuwymiarowym układzie PC1 vs PC2 wynika, że najwyższa wartość drugiej składowej wyróżnia próbkę liścia podbiału Fo.16, którą charakteryzuje bardzo wysoki poziom selenu, będący jednocześnie najwyższym ze wszystkich analizowanych 148 próbek surowców leczniczych. Liście podbiału reprezentowane są jeszcze przez trzy próbki Fo.15, Fo.17 i Fo.18, które są przesunięte ku środkowi wykresu z uwagi na niższą zawartość selenu w porównaniu z próbką Fo.16.

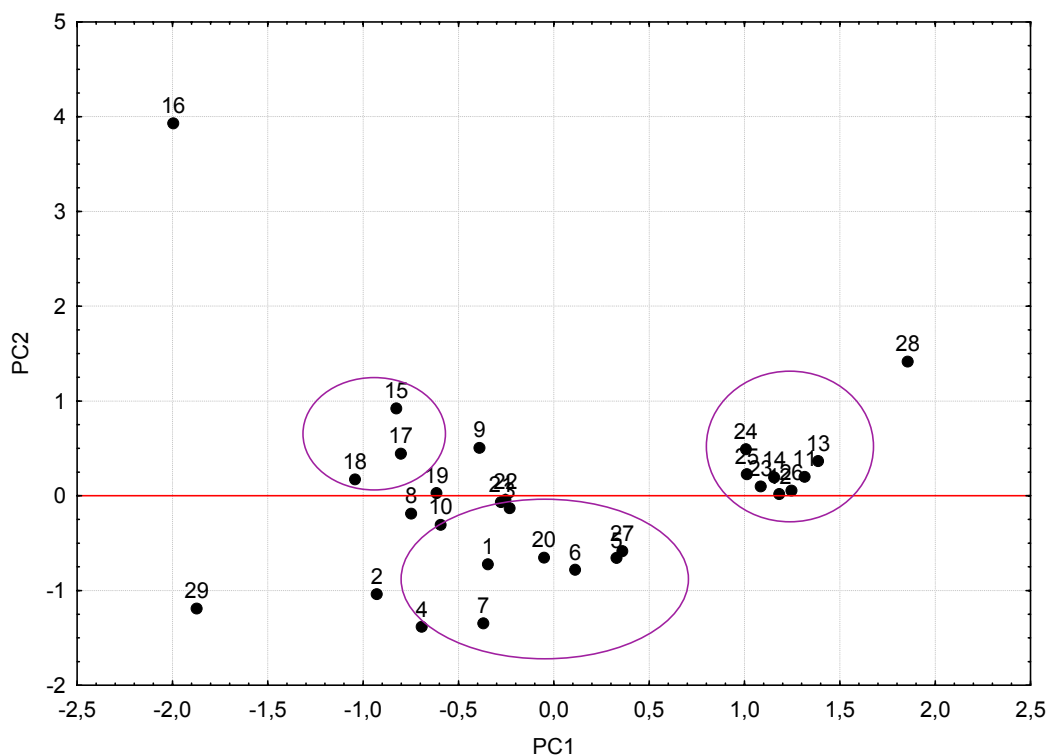
Z prawej strony wykresu skupione zostały cztery próbki liścia jeżyny (Fo.11 – Fo.14) oraz liść maliny (Fo.23 – Fo.26). Surowce te pochodzą z gatunków roślin należących do rodziny Różowatych (*Rosaceae*) i zostały zróżnicowane przez pierwszą główną składową ze względu na wysokie stężenie manganu, a niskie żelaza.

Rodzinę Różowatych reprezentuje także liść poziomki (Fo.4 – Fo.6). Z analizy Rys. 14 można zauważyć, że próbki te zostały przesunięte w obszar ujemnych wartości PC2 ze względu na wyższy poziom żelaza (szczególnie próbka Fo.4) i niższy poziom manganu w porównaniu z próbkami liści jeżyny i maliny.

Próbki liścia mącznicy Fo.27 i Fo.28 charakteryzują się różnymi wartościami współrzędnych PC1 i PC2. Surowiec Fo.28 zlokalizowany jest w prawej górnej części

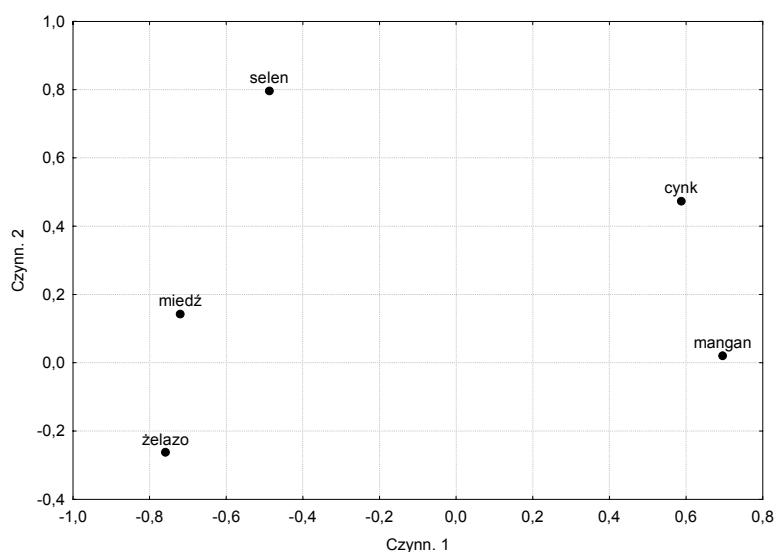
wykresu ze względu na trzy razy wyższą zawartość manganu i dwa razy wyższą zawartość cynku niż próbka Fo.27.

W obszarze najbardziej ujemnych wartości PC1 i PC2 znajduje się liść majeranku, Fo.29, ze względu na bardzo wysoką zawartość żelaza (najwyższa ze wszystkich próbek) oraz miedzi.



Rys. 14. Wykres PC1 względem PC2 dla liści.

Analiza przedstawionych na Rys. 15 wartości ładunków głównych składowych wskazuje, że rozmieszczeni próbek wzdłuż osi PC1 jest determinowane przez stężenie manganu oraz ujemnie skorelowane stężenie miedzi i żelaza. Ciężar ładunku PC2 jest determinowany przez stężenie selenu. Natomiast cynk jest pierwiastkiem, który w podobnym stopniu wpływa na obie główne składowe, korelując z nimi dodatnio.



Rys. 15. Wykres ładunków głównych komponentów dla liści.

6.3. PCA kwiatów

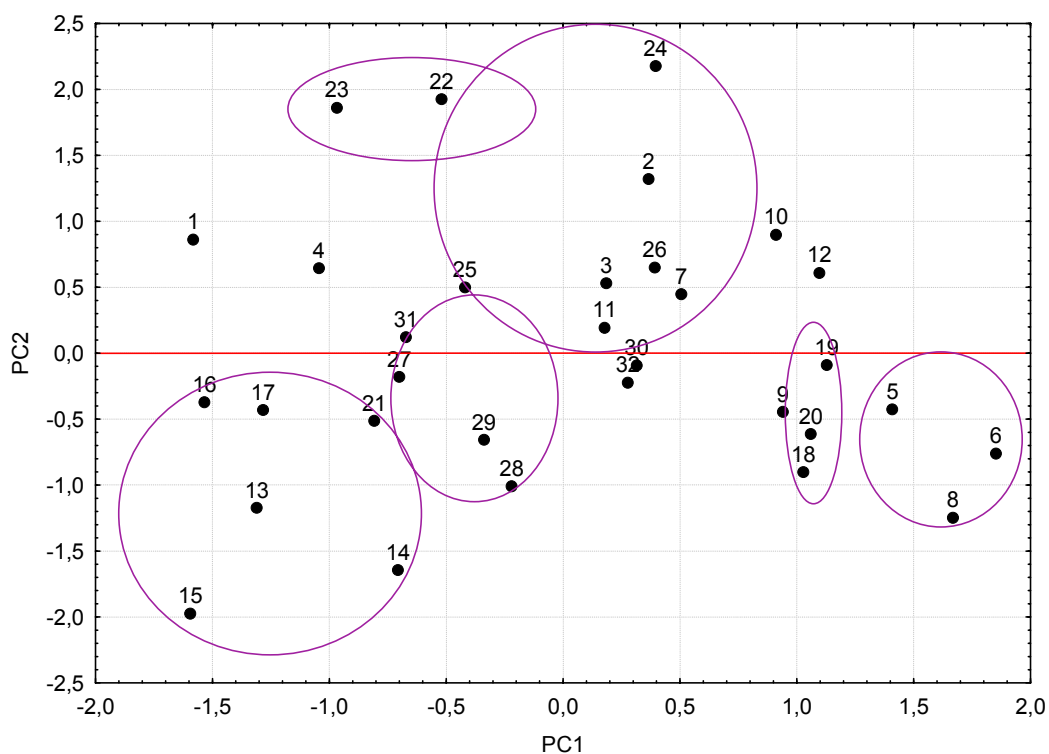
Na Rys. 16 przedstawiono rozmieszczenie próbek kwiatów w układzie PC1 vs PC2. W obszarze ujemnych wartości zarówno pierwszej, jak i drugiej głównej składowej, znajdują się kwiaty nagietka obejmujące pięć próbek (Fl.13 – Fl.17). Najbardziej ujemne wartości PC1 i PC2 charakteryzują próbkę Fl.15, ze względu na wyższe stężenie selenu w porównaniu z pozostałymi próbkami. Kwiaty nagietka Fl.16 i Fl.17 przesunięte są w kierunku wyższych wartości PC2 z uwagi na większą zawartość manganu (Fl.16) i miedzi (Fl.17).

Kwiat lawendy reprezentowany jest przez cztery próbki. Trzy z nich (Fl.5, Fl.6, Fl.8) zlokalizowane są w prawym dolnym rogu wykresu ze względu na wysokie stężenie żelaza i małe manganu w porównaniu z próbką Fl.7, w której stwierdzono odwrotną zawartość omawianych pierwiastków.

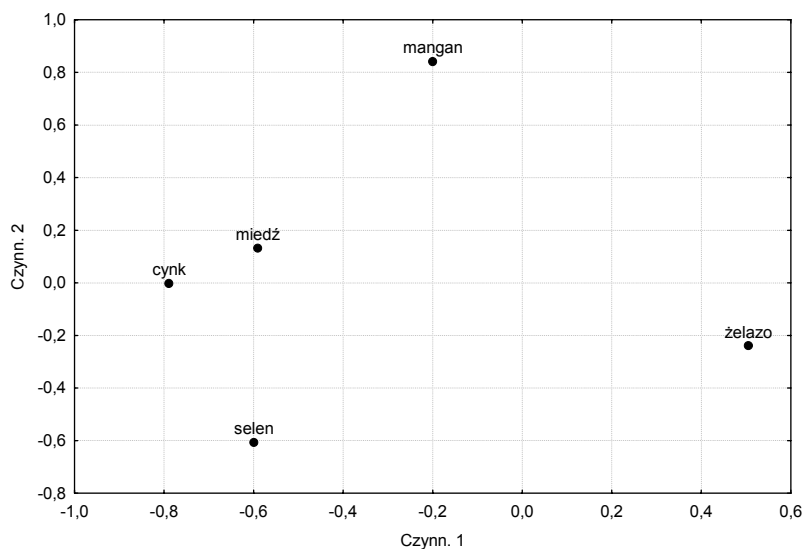
Surowce kwiatu jasnoty (Fl.18 – Fl.20) charakteryzują się podobnymi wartościami PC1, zostały jednak zróżnicowane przez wartość PC2 ze względu na większą zawartość cynku i żelaza oraz mniejszą ilość selenu w surowcach Fl.18 i Fl.20 w porównaniu z próbką Fl.19. Podobną sytuację stwierdzono w przypadku kwiatu głogu reprezentowanego przez trzy próbki, Fl.27 – Fl.29.

Wysokie wartości drugiej głównej składowej wyróżniają dwie próbki kwiatu rumianku (Fl.22 i Fl.23) oraz próbkę kwiatu kocanki (Fl.24). Analizując rozmieszczenie tych

surowców na Rys. 16 widać, że próbki te są oddalone od pozostałych próbek kwiatów kocanki Fl.25 i Fl.26 oraz kwiatu rumianku Fl.21 z uwagi na wysoką zawartość manganu.



Rys. 16. Wykres PC1 względem PC2 dla kwiatów.

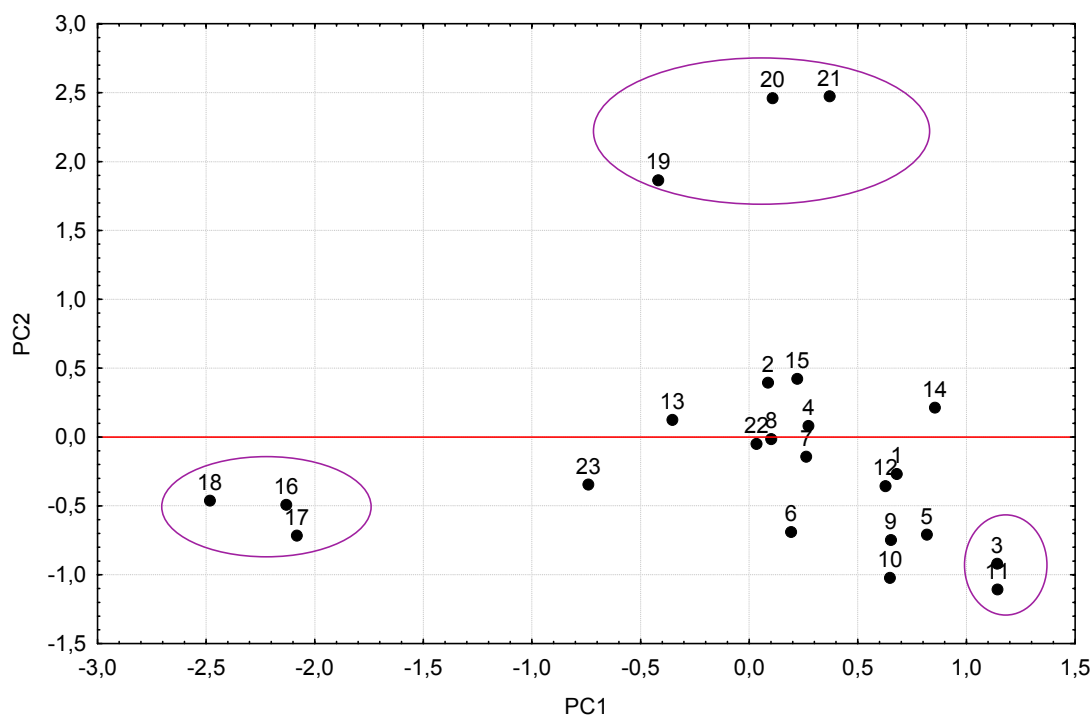


Rys. 17. Wykres ładunków głównych komponentów dla kwiatów.

Z przedstawionych na Rys. 17 wartości ładunków głównych komponentów wynika, że pierwiastki takie jak żelazo, miedź i cynk mają bardzo duży udział w determinowaniu wartości PC1, przy czym należy zwrócić uwagę na fakt, że miedź i cynk są ujemnie skorelowane z PC1. Główny ciężar ładunku PC2 jest zdeterminowany przez mangan i selen przy czym selen w grupie kwiatów w odróżnieniu od liści koreluje ujemnie z wartościami PC2.

6.4. PCA korzeni

Rozmieszczenie próbek korzeni na wykresie dwuwymiarowym PC1 vs PC2 przedstawiono na Rys. 18. Najwyższe wartości PC2 wyróżniają próbki Ra.20 – Ra.21, są to trzy surowce korzenia pięciornika kurze ziel, charakteryzujące się bardzo wysokim stężeniem cynku przy znaczącej zawartości manganu, nie dotyczy to próbki Ra.19.

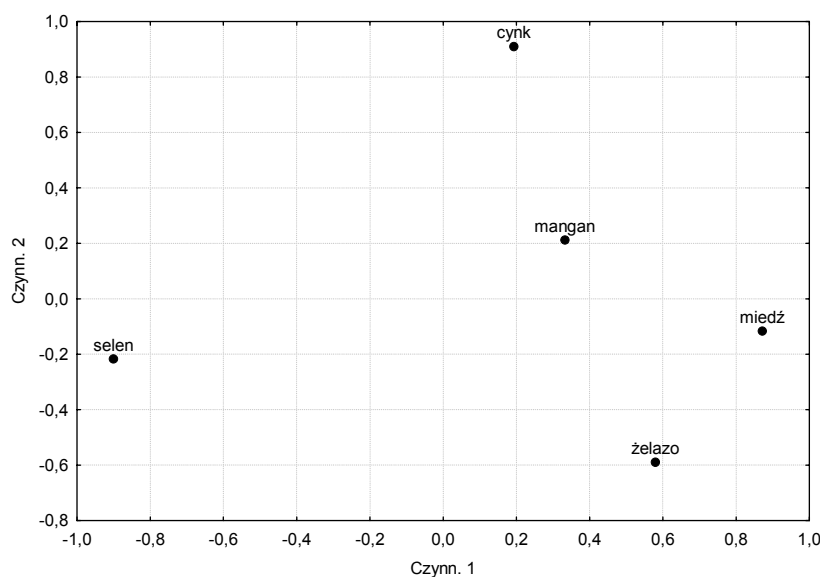


Rys. 18. Wykres PC1 względem PC2 dla korzeni.

Korzeń cykorii podróżnika reprezentowany jest przez trzy próbki Ra.16 – Ra.18, które znajdują się w obszarze najbardziej ujemnych wartości PC1 i PC2. Surowce te zlokalizowane są w lewym dolnym rogu wykresu ze względu na wysokie stężenie selenu przy bardzo niskiej zawartości miedzi i cynku.

Próbki korzenia arcydzięgla Ra.3 oraz korzenia lubczyka Ra.11 znajdują się w prawym dolnym rogu wykresu. Analizując ich rozmieszczenie wyraźnie widać, że odbiegają od pozostałych surowców pochodzących od tych samych gatunków roślin ze względu na wyższą zawartość żelaza.

Interpretacja przedstawionych na Rys. 19 wartości ładunków głównych składowych wskazuje, że największy wpływ na wartość PC1 wywiera stężenie miedzi i ujemnie skorelowane stężenie selenu. Na wartość PC2 istotny wpływ ma stężenie cynku. Mangan i żelazo wpływają na obie główne składowe.

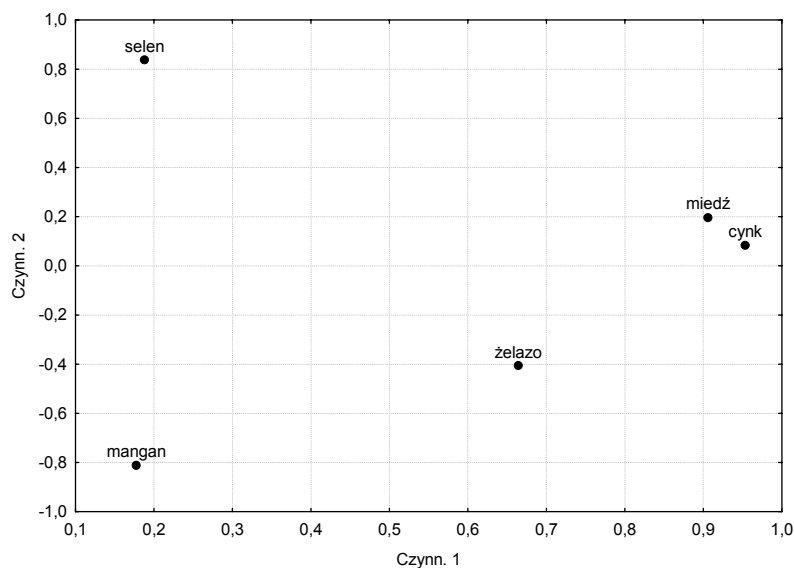


Rys. 19. Wykres ładunków głównych komponentów dla korzeni.

6.5. PCA owoców i nasion

Na Rys. 20 przedstawiono rozmieszczenie próbek owoców i nasion w układzie PC1 vs PC2. Z lewej strony wykresu znajdują się próbki owocu głogu, jarzębiny oraz dzikiej róży. Położone w lewym górnym rogu owoce głogu (Fr.19 – Fr.21), zróżnicowane są przez drugą główną składową ze względu na wysokie stężenie selenu przy jednocześnie niskim poziomie manganu. Próbka Fr.22 znajduje się w zakresie niższych wartości PC2 gdyż charakteryzuje się niższym stężeniem selenu w porównaniu z pozostałymi owocami głogu.

Owoce dzikiej róży reprezentowane przez cztery próbki (Fr.8 – Fr.11) są zlokalizowane z lewej strony, po środku wykresu z uwagi na znaczące stężenie manganu przy stosunkowo niskim stężeniu selenu, miedzi i cynku.



Rys. 21. Wykres ładunków głównych komponentów dla owoców i nasion.

7. Analiza skupień

Pojęcie analizy skupień (*Cluster Analysis*) obejmuje kilka różnych algorytmów klasyfikacji i jest narzędziem do eksploracyjnej analizy danych, której celem jest ułożenie obiektów w grupy w taki sposób, aby stopień powiązania obiektów z obiektami należącymi do tej samej grupy był jak największy, a z obiektami z pozostałych grup jak najmniejszy.

W pracy tej zastosowano metodę Warda jako metodę aglomeracyjną. Jako miarę odległości wykorzystano odległość euklidesową czyli odległość geometryczną w przestrzeni wielowymiarowej.

We wszystkich dendrogramach przedstawionych na Rys. 22-31, względną miarę odległości wyrażono w procentach odległości maksymalnej, natomiast determinację ważnych skupień określono przy użyciu indeksu Sneatha na poziomie 33 i 66 % maksymalnej miary odległości (linia przerywana na Rys. 22-31).

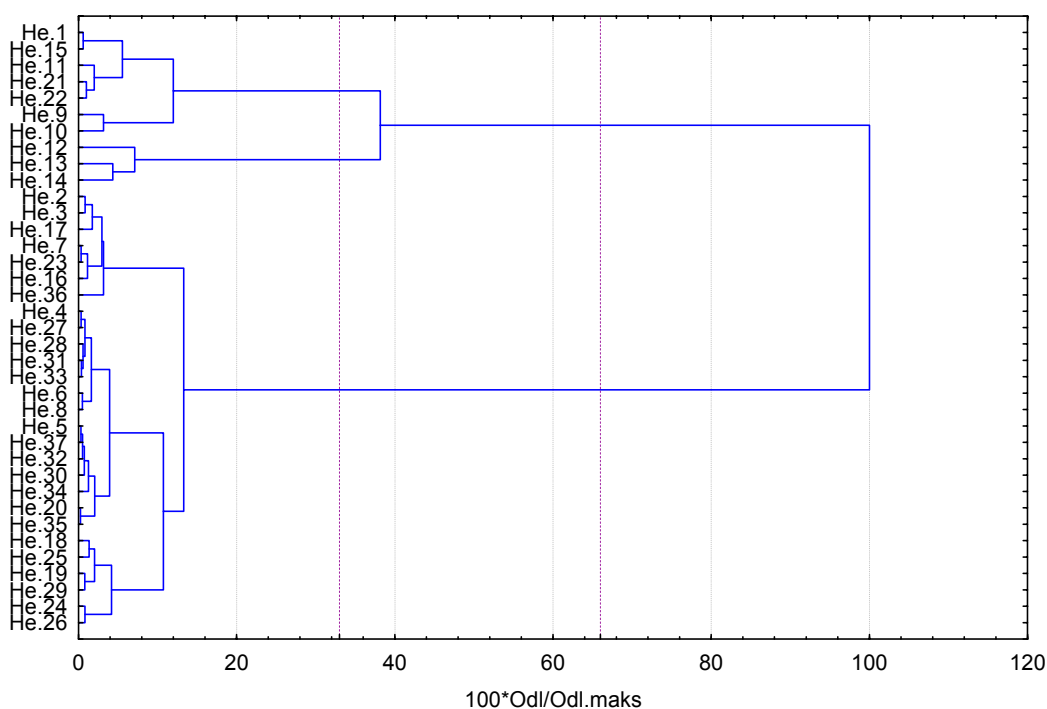
7.1. Analiza skupień dla roślinnych surowców leczniczych

Analiza dendrogramu przedstawionego na Rys. 22 wykazała, że w grupie ziół można wyróżnić trzy skupienia. Skupienia I i II są ze sobą połączone w odległości poniżej 66 %

odległości maksymalnej, co wskazuje, że surowce wchodzące w skład tych grup mają bardziej zbliżony skład pierwiastkowy w porównaniu z próbkami skupienia III.

Skupienie II obejmuje trzy próbki: ziele tymianku (He.12) oraz majeranku (He.13 i He.14). Próbki te wyróżniają się bardzo wysokim stężeniem żelaza, a także manganu i miedzi (He.12) oraz dużą zawartością selenu (He.13 i He.14).

Surowce należące do pierwszego skupienia: ziele melisy (He.1), ziele tymianku (He.9 - He.11), ziele majeranku (He.15), ziele drapacz (He.21, He.22) charakteryzują się dużą zawartością żelaza. Najliczniejsze skupienie III w skład którego wchodzi 27 próbek wyróżnia się znaczną zawartością manganu przy niski poziomie żelaza i jest połączone ze skupieniem pierwszym i drugim w maksymalnej odległości.

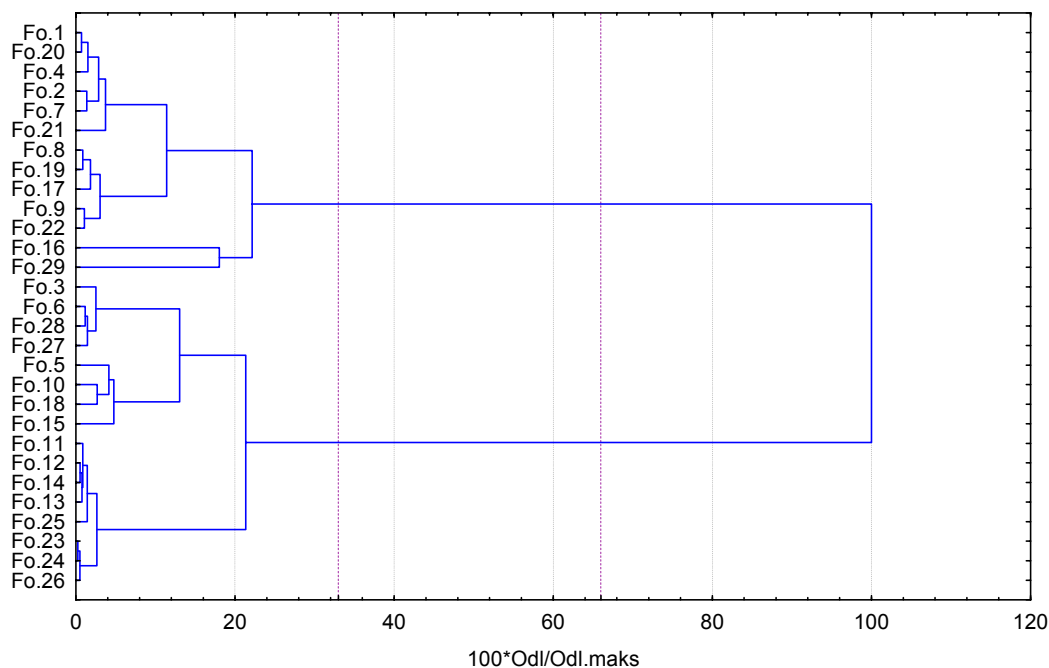


Rys. 22. Dendrogram dla ziół.

Na Rys. 23 przedstawiającym dendrogram liści można wskazać cztery skupienia na poziomie poniżej 33 % odległości maksymalnej. Pierwsze skupienie utworzone jest przez liść melisy (Fo.1, Fo.2), poziomki (Fo.4), liść mięty (Fo.7 – 9), podbiału (Fo.17), liść szalwii (Fo.19 – Fo.22), czyli surowce o wysokiej zawartości żelaza w mniejszym stopniu manganu.

Skupienie drugie obejmuje tylko dwie próbki. Liść majeranku (Fo.29) charakteryzuje się bardzo wysokim stężeniem żelaza, natomiast próbka liścia podbiału (Fo.16) bardzo wysokim stężeniem selenu i wysokim żelaza.

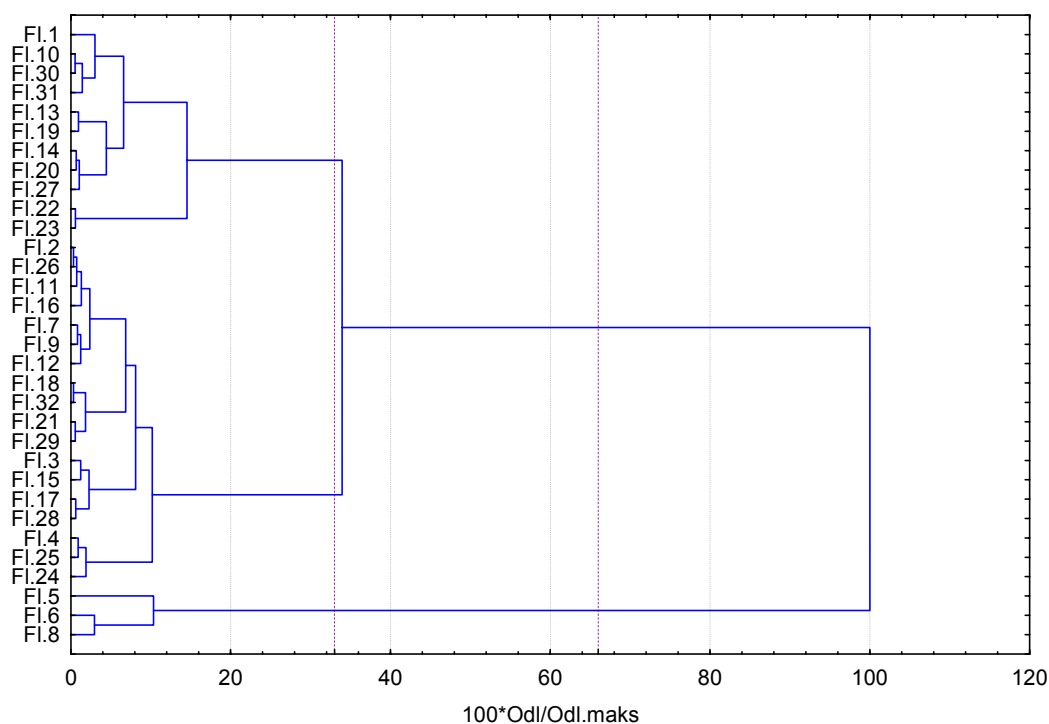
Czwarte skupienie tworzą próbki o bardzo dużej zawartości manganu i w mniejszym stopniu cynku. Wyróżnić można tu po cztery próbki liścia jarzębiny (Fo.11 – Fo.14) oraz liścia maliny (Fo.23 – 26). Na dwuwymiarowym wykresie PC1 vs PC2 (Rys. 14) surowce te leżą w obszarze największych wartości pierwszej głównej składowej. Surowce należące do trzeciego skupienia charakteryzują się niską zawartością żelaza oraz manganu w porównaniu z próbkami pozostałych skupień.



Rys. 23. Dendrogram dla liści.

W grupie kwiatów na dendrogramie przedstawionym na Rys. 24 można wyróżnić trzy skupienia. Skupienie trzecie połączone w maksymalnej odległości z pozostałymi, obejmuje trzy próbki kwiatu lawendy (Fl.5, Fl.6, Fl.8) wyróżniające się bardzo wysoką zawartością żelaza. Na dwuwymiarowym wykresie PC1 vs PC2 (Rys. 16) surowce te leżą w obszarze największych wartości pierwszej głównej składowej.

Pierwsze i drugie skupienie powstały na poziomie poniżej 33 % odległości maksymalnej. Surowce należące do pierwszego skupienia: kwiat krwawnika (Fl.1), bławatka (Fl.10), nagietka (Fl.13, Fl.14), jasnoty (Fl.19, Fl.20), kwiat rumianku (Fl.22, Fl.23), głogu (Fl.27), arniki (Fl.30, Fl.31) charakteryzują się wysoką zawartością żelaza, manganu oraz cynku w porównaniu z próbkami II skupienia które tworzy 18 kwiatów.



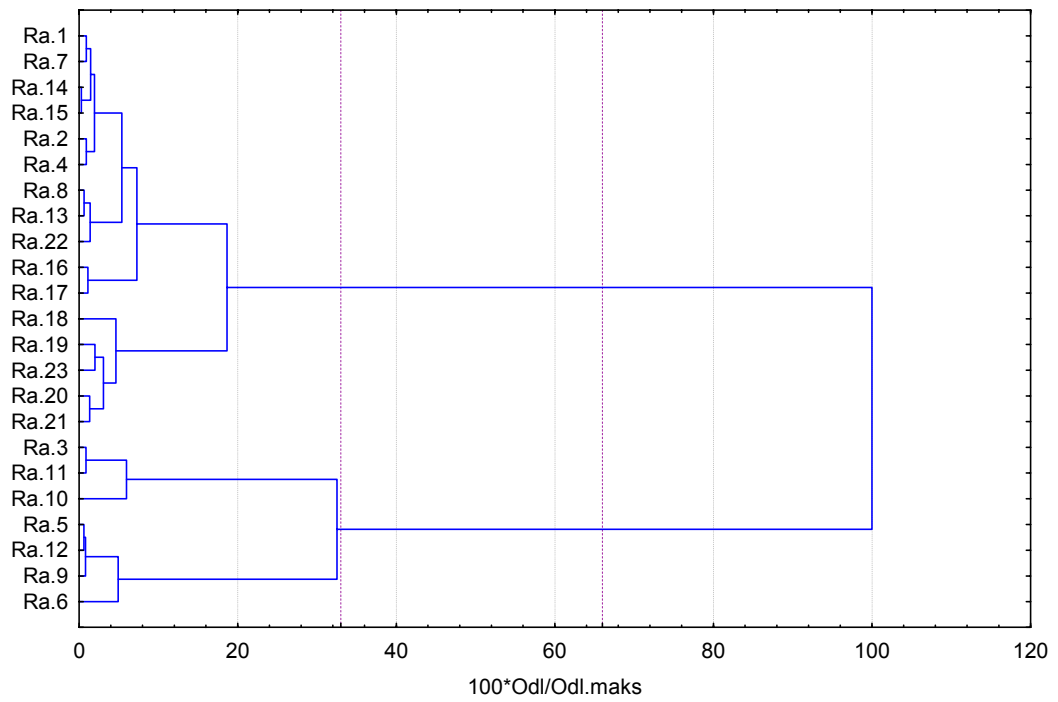
Rys. 24. Dendrogram dla kwiatów.

Na Rys. 25 na którym przedstawiono wyniki obliczeń techniką analizy skupień dla korzeni wynika, że próbki zostały podzielone na dwa skupienia o wiązaniu poniżej 33 % odległości maksymalnej. Skupienie II najbardziej odległe od pozostałych surowców, obejmuje próbki o bardzo wysokiej zawartości żelaza. Do grupy tej należą korzeń arcydzięgla (Ra.3), łopianu (Ra.5, Ra.6), mniszka (Ra.9), korzeń lubczyka (Ra.10 – Ra.12).

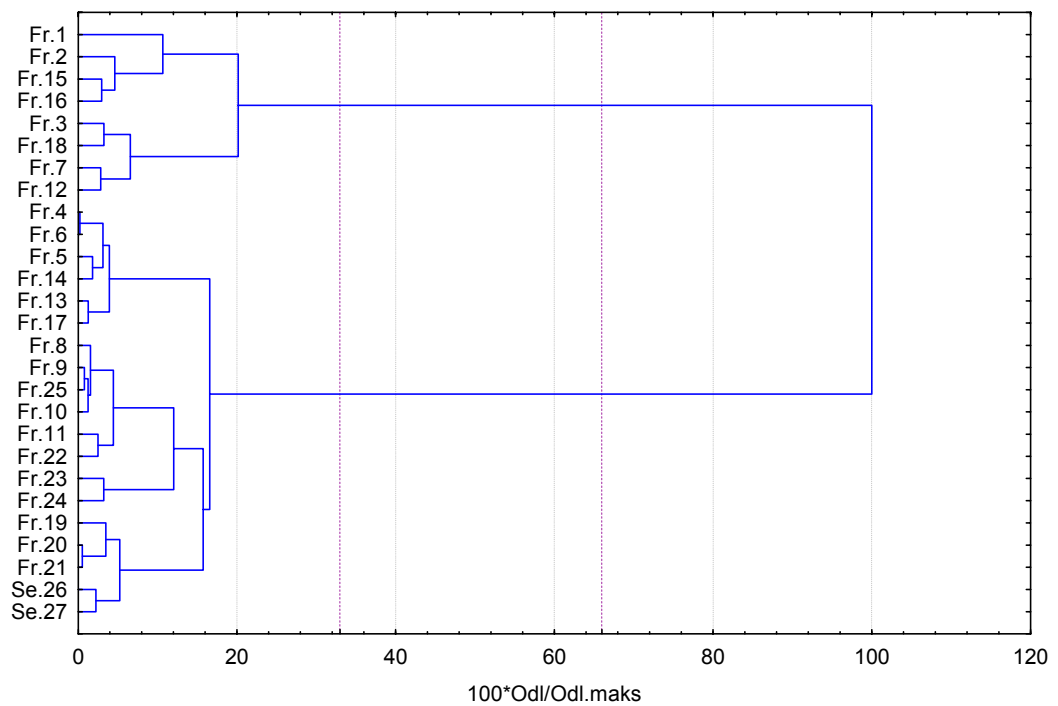
Surowce należące do pierwszego skupienia wyróżnia znacznie niższa zawartość żelaza w porównaniu z próbkami skupienia II, a także wysoka zawartość selenu - korzeń cykorii podróznik (Ra.16 – Ra.18) , cynku - korzeń pięciornika kurze ziele (Ra.19 – Ra.21).

Dendrogram dla owoców i nasion przedstawiono na Rys. 26. Wśród próbek można wyróżnić dwa skupienia na poziomie poniżej 33 % odległości maksymalnej. Mniej liczne skupienie I tworzą próbki o wysokiej zawartości żelaza oraz znaczącej ilości miedzi i cynku. Do grupy tej należą owoce anyżu (Fr.1 – Fr.3), kminku (Fr.7), kopru (Fr.12, Fr.15) oraz owoce kolendry (Fr.16, Fr.18).

Drugie skupienie połączone z pierwszym w maksymalnej odległości, obejmuje 19 próbek w wielu przypadkach o dużej zawartości selenu i manganu, a niskim poziomie żelaza.



Rys. 25. Dendrogram dla korzeni.

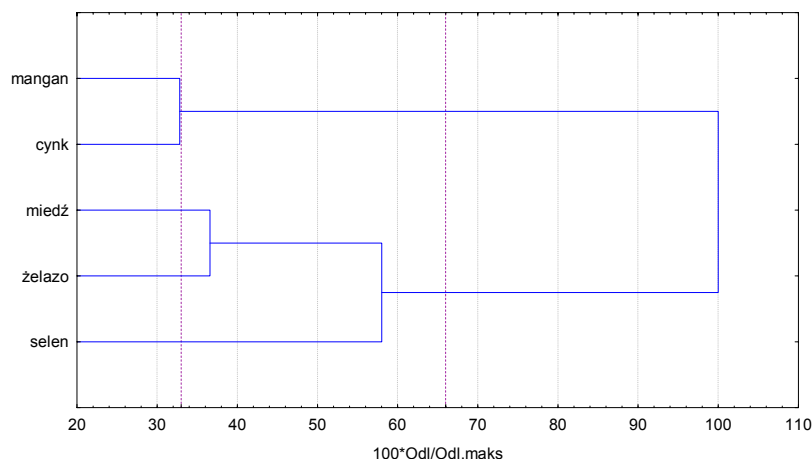


Rys. 26. Dendrogram dla owoców i nasion.

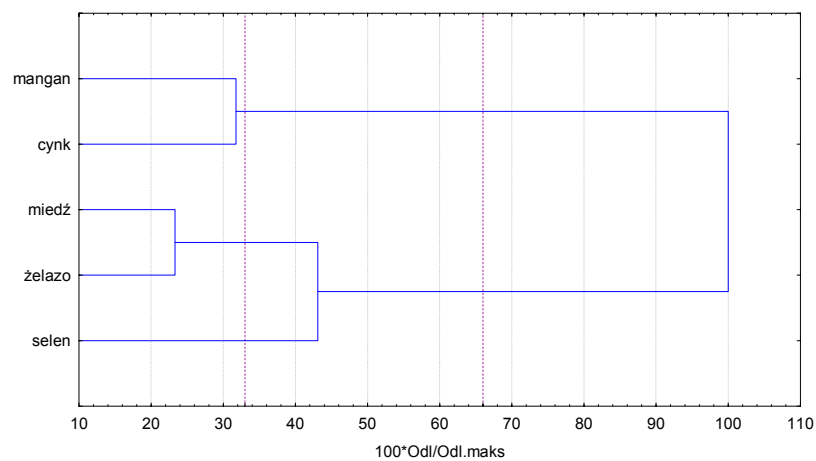
7.2. Analiza skupień dla pierwiastków

Analizę skupień zastosowano również do grupowania pierwiastków w poszczególnych grupach roślinnych surowców leczniczych. Jako miarę odległości wybrano odległość 1-r Persona oraz zastosowano metodę Warda i otrzymane dendrogramy przedstawiono na Rys. 27 – 31. Interpretacja wyników obliczeń techniką analizy skupień dowodzi, że można potraktować je jako uzupełnienie, a także potwierdzenie wyników analizy korelacji. Skupienia utworzone na najniższym poziomie wiązań opisują często pary pierwiastków o wysokiej wartości współczynnika korelacji. Analizując Rys. 31 można zauważyć, że wiązanie pomiędzy miedzią i cynkiem w grupie owoców powstało w najmniejszej odległości. Parę tych pierwiastków charakteryzuje także wysoka wartość współczynnika korelacji równa 0,87 (Tabela. 20). Podobne sytuacje występują również w innych grupach surowców np. w liściach Cu-Fe ($r = 0,52$), Mn-Zn ($r = 0,34$), w ziołach Mn-Zn ($r = 0,52$), Cu-Fe ($r = 0,47$).

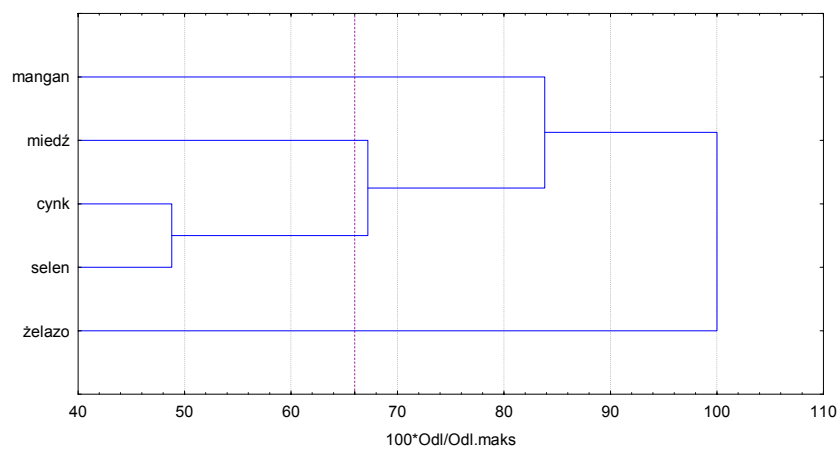
Wartościami ujemnymi współczynnika korelacji charakteryzują się pary pierwiastków które znajdują się w różnych skupieniach i są ze sobą połączone w maksymalnej odległości np. w owocach Se-Mn ($r = -0,49$), w korzeniach Cu-Se ($r = -0,73$).



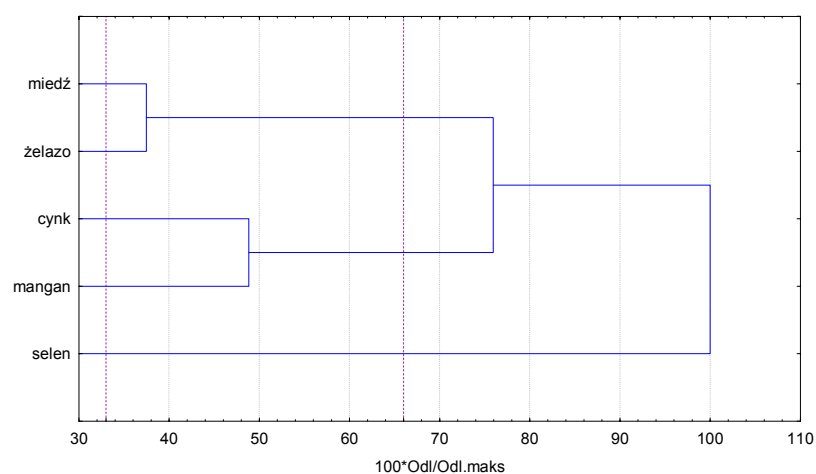
Rys. 27. Dendrogram dla oznaczanych pierwiastków w ziołach.



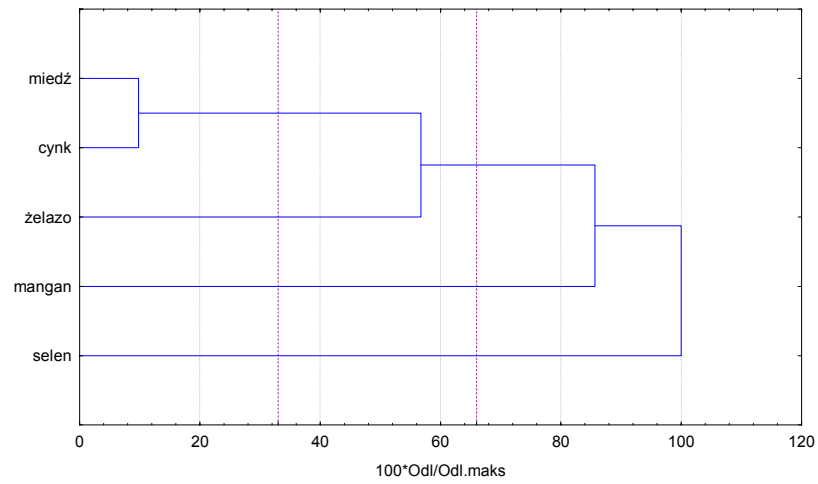
Rys. 28. Dendrogram dla oznaczanych pierwiastków w liściach.



Rys. 29. Dendrogram dla oznaczanych pierwiastków w kwiatach.



Rys. 30. Dendrogram dla oznaczanych pierwiastków w korzeniach.



Rys. 31. Dendrogram dla oznaczanych pierwiastków owocach i nasionach.

WNIOSKI

1. Zawartość selenu w większości analizowanych surowców wahała się w granicach od kilku do kilkunastu lub kilkudziesięciu nanogramów w gramie suchej masy surowca. Największa zawartość selenu stwierdzono w liściu podbiała. Źródłem tego pierwiastka mogą być także korzeń cykorii podróznika i ziele skrzypu, w których zawartość selenu przekroczyła 100 ng/g oraz ziele majeranku i owoc głogu.
2. Porównując średnią zawartość selenu w poszczególnych grupach surowców stwierdzono, że najwięcej zawierały go owoce i nasiona, a następnie zioła, liście kwiaty i korzenie.
3. Rozpatrując stężenie selenu w surowcach pochodzących od tego samego gatunku rośliny leczniczej, ale z różnych zakładów zielarskich, zaobserwowano zróżnicowanie zawartości oznaczanego pierwiastka w zależności od producenta, czego przykładem jest ziele majeranku i krwawnika. Stwierdzono także różnice w zawartości selenu w obrębie próbek pochodzących od tego samego producenta. Zauważono ponadto, że próbki surowców pochodzących z zakładu zielarskiego Kawon – Gostyń charakteryzują się wyższą zawartością selenu w porównaniu z surowcami pochodzącymi z firmy Boguccy – Kraków.
4. Zawartość miedzi w badanych surowcach wahała się w granicach od kilku do kilkunastu μg w gramie suchej masy surowca, manganu - od kilkudziesięciu do kilkuset μg w gramie, cynku - od kilku do kilkunastu lub kilkudziesięciu μg w gramie, natomiast żelaza - od kilkudziesięciu do kilkuset a nawet kilkuset tysięcy μg w gramie surowca. Porównując zawartości analizowanych pierwiastków w poszczególnych grupach badanych surowców stwierdzono, że w największej ilości obecne jest w nich żelazo, następnie mangan i cynk, w najmniejszej zaś miedź.
5. Porównując średnią zawartość oznaczanych pierwiastków w badanych surowcach stwierdzono, że w przypadku manganu, cynku i żelaza najbogatsze ich źródło stanowią liście i zioła, najuboższe zaś owoce i nasiona. Najwyższe średnie stężenie miedzi stwierdzono w kwiatach, natomiast zioła i liście charakteryzowały się niższą średnią zawartością tego pierwiastka.

6. Analiza korelacji wykazała istnienie par pierwiastków, które korelują w największym stopniu tj. Cu-Zn i Fe-Zn w owocach i nasionach, Mn-Zn w ziołach, Fe-Cu w liściach oraz ujemną korelację Se-Cu w korzeniach.

7. Analiza głównych składowych i analiza skupień umożliwiły wyodrębnienie roślinnych surowców o zbliżonym składzie pierwiastkowym. Skupienia tworzą przede wszystkim surowce pochodzące z tego samego gatunku rośliny leczniczej, a także surowce pochodzące od gatunków roślin należących do tej samej rodziny, jak np. liść jeżyny i maliny.

8. Interpretacja wyników obliczeń techniką analizy skupień dla pierwiastków w poszczególnych grupach roślinnych surowców leczniczych dowiodła, że można potraktować ją jako uzupełnienie, a także potwierdzenie wyników analizy korelacji. Skupienia utworzone na najniższym poziomie wiązań opisywały często pary pierwiastków o wysokiej wartości współczynnika korelacji.

LITERATURA

- Albert M., Demesmay C., Rocca J.L., Analysis of organic and non-organic arsenious or selenious compounds by capillary electrophoresis, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1995, 351, 426
- Alegria A., Barberá R., Farré R., Lagarda M.J., Lorente R.M, Torres A., Effectiveness of microwave based digestin procedures for the demineralization of human milk and infant formulas prior to fluorometric determination of selenium, *Nahrung*, 1996, 40, 92-95
- Allabashi R., Rendl J., Grasserbauer M., Validation of three atomic absorption spectrometric methods for the determination of selenium - a comparative evaluation of performance characteristics, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1997, 357, 1024-1028
- Aller A.J., Some insights in the determination of selenium in biological and environmental samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry, w: Hementaranjan A. (red.): *Advancements in micronutrient research*, Scientific Publishers, Jodhpur 1996
- Andersson O., Johansson K., Olin A., Determination of selenium in biological materials by a new fluorimetric reagent, 2,3-diamino-1,4-dichloronaphthalene, *Chem. Anal. (Warszawa)*, 1995, 40, 373-383
- Ayiannidis A., Voulgaropoulos A., Improved procedure for fluorometric determination of selenium in biological materials, *Chim. Chron., New Series*, 1990, 19, 111-118
- Barclay M., MacPherson A., Dixon J., Selenium content of a range of UK foods, *J. Food Comp. Anal.*, 1995, 8, 307-318
- Bellanger J.R., Adaptation of a dry ashing procedure for determination of selenium by fluorimetry in high-fat foods, *J. AOAC Int.*, 1995, 78, 477-480
- Bem E., Prosta spektrofotometryczna metoda oznaczania selenu w materiale biologicznym, *Chem. Anal. (Warszawa)*, 1979, 24, 155-159
- Bielański A., *Chemia ogólna i nieorganiczna*, PWN, wyd. VI, Warszawa 1981
- Blicharska E., Kocjan R., Błażewicz A., Oznaczanie zawartości żelaza, manganu, cynku, miedzi, kadmu i ołowiu w herbatkach ziołowych, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2007, 60, 145-151
- Bodini M.E., Alzamora E.O., Spectrophotometric determination of trace amounts of selenium with 4,5,6-triaminopyrimidine, *Talanta*, 1983, 30, 409-412
- Bodini M.E., Pardo J., Arancibia V., Spectrophotometric determination of selenium(IV) with 5,5-dimethyl-1,3-cyclohexanedione, *Talanta*, 1990, 37, 439-442
- Borella P., Bargellini A., Caselgrandi E., Menditto A., Patriarca M., Taylor A., Vivoli G., Selenium determination in biological matrices, *Microchem. J.*, 1998, 58, 325-336

- Bryszewska M., Pęczkowska B., Oznaczanie selenu w materiałach biologicznych. Przegląd wybranych metod, *Z. Nauk. Pol. Łódzkiej*, 1998, 785, 189-213
- Bye R., Presence of hydroxylamine in phosphoric acid/nitric acid/hydrogen peroxide digestion procedure for selenium determination, *Anal. Chem.*, 1988, 60, 1632-1635
- Campanella L., Ferri T., Morabito R., A selenium speciation model for the studies of natural water, *Analisis*, 1989, 9, 507-513
- Campbell J.D., Lifestyle, minerals and health, *Med. Hyp.*, 2001, 57, 521-531
- Capelo J.L., Fernandez C., Pedras B., Santos P., Gonzalez P., Vaz C., Trends in selenium determination/speciation by hyphenated techniques based on AAS or AFS, *Talanta*, 2006, 68, 1442-1447
- Cheng K.L., Determination of trace of selenium. 3,3'-diaminobenzidine as selenium(IV) organic reagent, *Anal. Chem.*, 1956, 28, 1738-1742
- Ciba J., Trojanowska J., Zołotajkin M., Mała encyklopedia pierwiastków, WNT, Warszawa 1996
- Cukor P., Lott P.F., The kinetics of the reaction of selenium(IV) with 2,3-diaminonaphthalene, *J. Phys. Chem.*, 1965, 10, 3232-3239
- Czerwińska D., Charakterystyka suplementów diety zawierających selen, *Terapia i Leki*, 2007, 56, 16-21
- Danch A., Drózd M., Uproszczona metoda fluorymetrycznego oznaczania selenu w materiale biologicznym, *Diagn. Lab.*, 1996, 32, 529-534
- Da-Qing Hao, Guo-Hong Xie, Yi-Min Zhang, Guo-Jun Tian, Determination of serum selenium by hydride generation flame atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 1996, 43, 595-600
- Dermelj M., Stibilj V., Byrne A.R., Benedik L., Šlejkovec Z., Jaćimović R., Applicability of neutron activation analysis (NNA) in quantitative determination of some essential and toxic trace elements in food articles, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1996, 202, 447-450
- Diaz-Alarcon J., Navarro-Alarcon M., Lopez-Garcia de la Serrana, Lopez-Martinez M., Determination of selenium in cereals, legumes and dry fruits from southeastern Spain for calculation of daily dietary intake, *Sci. Total Environ.*, 1996, 184, 183-189
- Dong A., Rendig V.V., Burau R.G., Besga G.S., Phosphoric acid, nitric acid, hydrogen peroxide digestion of soil and plant materials for selenium determination, *Anal. Chem.*, 1987, 59, 2730-2732
- Duda J., Masłowska J., Polarograficzna metoda oznaczania śladowych ilości selenu w wodach pitnych i napojach, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1985, 18, 13-16

- Edney A.T.B., Burrows I.E., Burger I.H., Blaza S.E., Raibird A.L., Markwell P.J., *The waltham book of dog and cat nutrition*, Pergamon Press, Oxford 1988
- Elleouet C., Quentel F., Madec C., Determination of inorganic and organic selenium species in natural waters by cathodic stripping voltammetry, *Water Res.*, 1996, 30, 900-914
- Elless M.P., Blaylock M.J., Huang J.W., Gussman C.D., Plants as a natural source of concentrated mineral nutritional supplements, *Food Chem.*, 2000, 71, 181-188
- Ellis D.R., Salt D.E., Plants, selenium and human health, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2003, 3, 273-279
- Ferri T., Favero G., Frasconi, M., Selenium speciation in foods: preliminary results on potatoes, *Microchem. J.*, 2007, 85, 222-227
- Ferri T., Luca C., Ticconi L., Selenium speciation in environmental matrices: a preliminary study on plants, *Anal. Lett.*, 2001, 34, 975-988
- Fijałek Z., Łozak A., Sarna K., Voltammetric and EQCM studies on selenium(IV) at mercury, gold and glassy carbon electrodes in the presence of Cu(II), Au(III), Pb(II) and Cd(II), *Electroanalysis*, 1998, 10, 846-851
- Filipovic-Kovacevic Z., Kruhac I., Simultaneous determination of chromium, nickel and selenium by voltammetric techniques, *Anal. Lett.*, 1996, 29, 451-461
- Fishbein L., Selenium, w: Merian E. (red.): *Metals and their compounds in the environment*, VCH, Weinheim 1991
- Floriańczyk B., Wpływ mikroelementów na metabolizm, *Mag. Med.*, 1996, 7, 47-49
- Foster L.H., Sumar S., Methods of analysis used for the determination of selenium in milk and infant formulae: a review, *Food Chem.*, 1995, 53, 453-466
- Foster L.H., Sumar S., Selenium in health and disease: a review, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 1997, 37, 211-228
- Fryer M.J., Rationale for clinical trials of selenium as an antioxidant for the treatment of the cardiomyopathy of Friedreich's ataxia, *Med. Hyp.*, 2002, 58, 127-132
- Furowicz A.J., Czernomysy-Furowicz D., Dąbrowski W., Właściwości biologiczne selenu i witaminy E. Cz. I. Selen, *Med. Wet.*, 1993a, 49, 304-306
- Furowicz A.J., Czernomysy-Furowicz D., Dąbrowski W., Właściwości biologiczne selenu i witaminy E. Cz. II. Witamina E, *Med. Wet.*, 1993b, 49, 344-346
- Garcia-Olalla C., Aller A.J., Alternative mercury-palladium chemical modifier for the determination of selenium in coal fly ash by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 1992, 259, 295-303

- Garcia-Olalla C., Robles L.C., Alemany M.T., Aller A.J., Determination of selenium in coal fly ashes by graphite furnace atomic absorption spectrometry using a cadmium-palladium chemical modifier, *Anal. Chim. Acta*, 1991, 247, 19-25
- Gawłowska A., Masłowska J., Badanie śladowych zawartości selenu w produktach zbożowych, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2001, 34, 43-48
- Gawłowska A., Masłowska J., Spektralne metody oznaczania śladowych ilości selenu w wodach naturalnych oraz sokach owocowych, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2000, 33, 91-97
- Gonzalez-Niet J., Lopez-Sanchez J.F., Comparison of chemical modifiers for selenium determination in soil aqua regia extracts by ZETAAS, *Talanta*, 2006, 69, 1118-1122
- Grabowska-Bochenek R., Piskorska D., Danch A., Wpływ podawania selenu w postaci preparatu drożdżowego na produkty peroksydacji lipidów w doświadczalnej hipercholesterolemii u królików, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2000, 33, 29-35
- Graczyk A., Konarski J., Radomska K., Selen - jego rola i funkcje w procesach metabolicznych organizmu człowieka, *Mag. Med.*, 1994, 41, 31-34
- Grosicki A., Interakcje selenu z wybranymi metalami ciężkimi, *Materiały Konferencyjne: Skazanie środowiska a zdrowie*, Augustów 1999, 92
- Holben D.H., Smith A.M., The diverse role of selenium within selenoproteins: a review, *J. Am. Diet. Assoc.*, 1999, 7, 836-843
- Hordyjewska A., Pasternak K., Selen i jego rola w organizmie człowieka, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2004, 37, 9-18
- Jarząbek Z., Naskalski J., Selen - nowy parametr w laboratorium klinicznym, *Diag. Lab.*, 1992, 29, 50-55
- Johansson K., Luo X., Olin A., Rapid one-step derivatization of selenium(VI) to a piazselenol for the spectrofluorimetric determination of selenium in biological material, *Talanta*, 1995, 42, 1979-1987
- Jović V., Miladinović D., Randjelović N., Djermanović V., The selenium content in *Astragalus onobrychis* L. var. *Chlorocarpus* (Gris.) Stoj. et. Stef. (Leguminosae), *Conference on Selenium, Scientific Meeting of the Serbian Academy of Sciences and Arts*, 1995, 78, 95-98
- Kabata-Pendias A., *Geochemistry of selenium*, *J. Environ. Path. Toxicol. Oncology*, 1998, 17, 173-177,
- Kabata-Pendias A., Pendias H., *Biochemia pierwiastków śladowych*, PWN, wyd. II, Warszawa 1999

- Kadřabová J., Madarić A., Ginter E., The selenium content of selected food from the Slovak Republic, *Food Chem.*, 1997, 58, 29-32
- Kasterka B., Spectrophotometric determination of selenium in industrial waste water using 1,2-diaminobenzene derivatives after preliminary extraction of Se(IV), *Chem. Anal. (Warszawa)*, 1992, 37, 361-367
- Kasterka B., The reaction of Se(IV) with 2-aminodiphenylamine and its application to spectrophotometric determination of selenium in a strongly acidic medium, *Mikrochim. Acta*, 1989, I, 337-347
- Kobayashi G.S., Medoff G., Chemotherapy of fungi, w: Baron S. (red.): *Medical microbiology*, Addison-Wesley Pub. Com. IMC, Menlo Park 1986
- Kořacz R., Górecka H., Dobrzański Z., Zawartość rtęci i selenu w mleku krowim z rejonów ekologicznego zagrożenia, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1996, 29, 225-228
- Koniecznyński P., Wesołowski M., Total phosphorus and its extractable form in plant drugs. Interrelation with selected micro- and macroelements, *Food Chem.*, 2007, 103, 210-216
- Kos V., Veber M., Hudnik V., Determination of selenium in soil by hydride generation AAS, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1998, 360, 225-229
- Lan W.G., Wong M.K., Microwave digestion of fish tissue for selenium determination by differential pulse polarography, *Talanta*, 1994, 41, 53-58
- Lauchli A., Selenium in plants: uptake, functions, and environmental toxicity, *Bot. Acta*, 1993, 106, 455-468
- Levander O.A., Morris V.C., Dietary selenium levels needed to maintain balance in North American adults consuming self-selected diets, *Am. J. Clin. Nutr.*, 1984, 39, 809-815
- Lipiński S., Służewska L., Metaboliczne przemiany związków selenu w ustroju szczura, *Roczn. PZH*, 1968, 19, 405-419
- Lityński T., Jurkowska H., *Żyźność gleby i odżywanie się roślin*, PWN, Warszawa, 1982
- Łozak A., Fijałek Z., Determination of selenium in pharmaceutical preparations for parenteral administration by adsorptive stripping voltammetry and atomic absorption spectrometry, *Chem. Anal. (Warszawa)*, 1998, 43, 1-7
- MacLeod F., McGaw B.A., Shand C.A., Stable isotope dilution mass spectrometry for determining total selenium levels in plants, soils and sewage sludge, *Talanta*, 1996, 43, 1091-1098
- Maksimović Z.J., Djujić I., Jović V., Rsumović M.M., Selenium deficiency in Yugoslavia, *Biol. Trace Elem. Res.*, 1992, 33, 187-196

- Maleki N., Safavi A., Doroodmand M., Determination of selenium in water and soil by hydride generation atomic absorption spectrometry using solid reagents, *Talanta*, 2005, 66, 858-862
- Martinez L.D., Baucells M., Pelfort E., Roura M., Olsina R., Selenium determination by HG-ICP-AES: Elimination of iron interferences by means of an iron-exchange resin in a continuous flow system, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1997, 357, 850-852
- Masłowska J., Baranowski J.B., Ekstrakcyjno-spektrofotometryczna metoda oznaczania śladowych ilości selenu w kosmetykach z wykorzystaniem 3,3'-dwaaminobenzodyny, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1982, 15, 173-178
- Masłowska J., Brzostowska A., Badanie zawartości selenu w roślinach z terenu miasta Łodzi, *Roczn. PZH*, 1986, 37, 407-408
- Masłowska J., Gawłowska A., Oznaczenie selenu w wodach mineralnych metodą ASA, *Roczn. PZH*, 1999, 50, 261-267
- Masłowska J., Janiak J., Badanie poziomu selenu w drożdżach selenowych, surowcach stosowanych do ich produkcji oraz odpadach poprodukcyjnych, *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1991, 24, 221-226
- Mayer D., Haubenwallner S., Kosmus W., Modified electrical heating system for hydride generation atomic absorption spectrometry and elaboration of a digestion method for the determination of arsenic and selenium in biological materials, *Anal. Chim. Acta*, 1992, 268, 315-321
- Mazej D., Falnoga I., Veber M., Stibilj V., Determination of selenium species in plant leaves by HPLC-UV-HG-AFS, *Talanta*, 2006, 68, 558-568
- McNaughton S., Marks G., Selenium content of Australian foods: a review of literature values, *J. Food Comp. Anal.*, 2002, 15, 169-182
- Mejuto-Marti M.C., Bollain-Rodriguez M.H., Bermejo-Martinez F., Fluorimetric determination of selenium in human tissues, *Analisis*, 1987, 15, 420-423
- Mejuto-Marti M.C., Bollain-Rodriguez M.H., Herrero-Latorre C., Bermejo-Martinez F., Selenium content of vegetables, fruits and cereals in Galicia (Northwest Spain), *J. Agric. Food Chem.*, 1988, 36, 293-295
- Mestek O., Suchanek M., Vodičková Z., Zemanova B., Zima T., Comparison of the suitability of various atomic spectroscopic techniques for the determination of selenium in human whole blood, *J. Anal. At. Spectr.*, 1997, 12, 85-89
- Michalke B., CE-ICP-MS: advantages and improvements in selenium speciation, *LC- GC Europe*, 2000, 1, 36-41

- Mino Y., Ota N., Determination of selenium in crude drugs by energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry, *Chem. Pharm. Bull.*, 1990, 38, 2208-2211
- Mizutani T., Tanabe K., Watanabe K., Goto M., Selenium contents in *Astragalus* and uncultivated soils in Japan, *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health*, 1996, 42, 360-366
- Moreno M.E., Perez-Conde C., Camara C., The effect of the presence of volatile organoselenium compounds on the determination of inorganic selenium by hydride generation, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2003, 375, 666-672
- Nakaguchi Y., Dong X., Suzuki Y., Aihara M., Effect of sample digestion methods on selenium speciation in human hair samples by hydride generation atomic absorption spectrometry, *J. Fac. Sci. Engg. Kinki Univ.*, 1998, 34, 27-32
- Nakane A., TNF in Listeriosis, w: Bentler B. (red.): Tumor necrosis factors - the molecules and their emerging role in medicine, Raven Press, New York 1992
- National Academy Press, RDA, 10th ed., Washington DC, 1989
- National Academy Press, Selenium in nutrition, Washington DC 1983
- Navarro M., Lopez H., Ruiz M.L., Gonzalez S., Perez V., Lopez M.C., Determination of selenium in serum by hydride generation atomic absorption spectrometry for calculation of daily dietary intake, *Sci. Total Environ.*, 1995, 175, 245-252
- Neve J., Methods in determination of selenium states, *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 1991, 5, 1-17
- Niesiobędzka K., Czauderna M., Badanie biodystrybucji selenu i rtęci u myszy metodą instrumentalnej neutronowej analizy aktywacyjnej, *Roczn. PZH*, 1996, 47, 167-174
- Nikonorow M., Urbanek-Karłowska B., Toksykologia żywności, PZWL, Warszawa 1987
- Nikonorow M., Zanieczyszczenia chemiczne i biologiczne żywności, WNT, Warszawa 1980
- Oliveira A.P., Gomes Neto J.A., Nobrega J.A., Oliveira P.V., Use of the internal standardization for difficult sampling by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 2004, 64, 334-337
- Palmer I.S., Thies N., Determination of selenium in feeds and premixes: collaborative study, *J. AOAC Int.*, 1997, 80, 469-480
- Palmer I.S., Analytical detection of selenium in water, soil, and plants, w: Frankenberger W.T., Engberg R.A. (red.): Environmental chemistry of selenium, Marcel Dekker Inc., New York 1998
- Pappa E.C., Pappas A.C., Surai P.F., Selenium content in selected foods from the Greek market and estimation of the daily intake, *Sci. Total Environ.*, 2006, 372, 100-108

- Pezzarossa B., Petruzzelli G., Petacco F., Malorgio F., Ferri T., Absorption of selenium by *Lactuca sativa* as affected by carboxymethylcellulose, *Chemosphere*, 2007, 67, 322-329
- Pickering I.J., Brown G.E., Tokunaga T.K., Quantitative speciation of selenium in soils using X-ray absorption spectroscopy, *Environ. Sci. Technol.*, 1995, 29, 2456-2458
- Plessi M., Bertelli D., Manzani A., Mercury and selenium content in selected seafood, *J. Food Comp. Anal.*, 2001, 14, 461-467
- Pyrzyńska K., Determination of selenium species in environmental samples, *Mikrochim. Acta*, 2002, 140, 55-62
- Pyrzyńska K., Recent developments in speciation analysis of selenium, *Chem. Anal. (Warszawa)*, 1995, 40, 667-686
- Pyrzyńska K., Speciation analysis of selenium, *Materiały zjazdowe IV Międzynarodowe Sympozjum „Forum Chemiczne”*, Warszawa 1998, 75-76
- Pyrzyńska K., Speciation analysis of some organic selenium compounds, *Analyst*, 1996, 121, 77-83
- Pyrzyńska K., Spectrophotometric determination of selenium with 1-naphthylamine-7-sulfonic acid, *Anal. Sci.*, 1997, 13, 626-632
- Rajca A., Chemiczne aspekty roli selenu w mechanizmach obrony organizmów przed powstawaniem chorób nowotworowych, *Wiad. Chem.*, 1990, 44, 665-677
- Rayman M.P., The importance of selenium to human health, *Lancet*, 2000, 356, 233-241
- Ražić S., Onjia A., Dogo S., Slavković L., Popvič A., Determination of metal content in some herbal drugs - Empirical and chemometric approach, *Talanta*, 2005, 67, 233-239
- Reid M.E., Stratton M.S., Lillico A.J., Fakih M., Natarajan R., Clark L.C., A report of high-dose selenium supplementation: response and toxicities, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2004, 18, 69-74
- Rodriguez E.M., Sanz M.T., Romero C.D., Critical study of fluorimetric determination of selenium in urine, *Talanta*, 1994, 41, 2025-2031
- Rongrong Xu, Yu-Wei Chen, Huang J., Belzile N., Determination of selenium species in porewater and sediment samples by hydride generation atomic absorption spectrometry and high performance liquid chromatography, *Can. J. Anal. Sci. Spect.*, 1997, 42, 56-62
- Russeva E., Havezov I., Speciation of selenium in water – application of analytical techniques, *Anal. Lab.*, 1996, 5, 3-12
- Sager M., Selenium occurrence and ecology, *Stud. Environ. Sci.*, 1993, 55, 459-473
- Sahin F., Volkan M., Howard A., Ataman Y., Selective pre-concentration of selenite from aqueous samples using mercapto-silica, *Talanta*, 2003, 60, 1003-1009

- Sakai Y., Tomura K., Ohshita K., Determination of selenium(IV) and selenium(VI) in natural water samples by neutron activation analysis after chemical pre-collection, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 1994, 187, 441-450
- Saygi K.O., Melek E., Tuzen M., Soylak M., Speciation of selenium(IV) and selenium(VI) in environmental samples by the combination of graphite furnace atomic absorption spectrometric determination and solid phase extraction on Diaion HP-2MG, *Talanta*, 2007, 71, 1375-1381
- Schneider G., Krivan V., Multi-element analysis of tobacco and smoke condensate by instrumental neutron activation analysis and atomic absorption spectrometry, *J. Environ. Anal. Chem.*, 1993, 53, 87-100
- Séby F., Gautier M.P., Lespés G., Astruc M., Selenium speciation in soil after alkaline extraction, *Sci. Total Environ.*, 1997, 207, 81-90
- Seńczuk W., Toksykologia, PZWL, Warszawa 1994
- Sher L., Role of thyroid hormones in the effects of selenium on mood, behavior, and cognitive function, *Med. Hyp.*, 2001, 57, 480-483
- Shtangeeva I.V., Variation of the elemental composition of plants and soil, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 1994, 177, 381-391
- Służewska L., Spektrofotometryczna metoda oznaczania selenu w materiale roślinnym, *Roczn. PZH*, 1964, 15, 303-308
- Smrkolj P., Pograjc L., Hlastan-Ribić C., Stibilj V., Selenium content in selected Slovenian foodstuffs and estimated daily intakes of selenium, *Food Chem.*, 2005, 90, 691-697
- Smrkolj P., Stibilj V., Determination of selenium in vegetables by hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 2004, 512, 11-17
- Suvaradhan K., Suresh Kumar K., Rekha D., Kiran K., Jaya Raj B., Kriszna Murthy Naidu G., Chiranjeevi P., Selenium determination in various vegetables samples by spectrophotometry, *Food Chem.*, 2007, 103, 1044-1048
- Szczepaniak W., Metody instrumentalne w analizie chemicznej, PWN, wyd. V, Warszawa 2004
- Tamari Y., Kim E.S., Longitudinal study of the dietary selenium intake of exclusively breast-fed infants during early lactation in Korea and Japan, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 1999, 13, 129-133
- Tamari Y., Methods of analysis for the determination of selenium in biological, geological, and water samples, w: Frankenberger W.T., Engberg R.A. (red.): *Environmental chemistry of selenium*, Marcel Dekker Inc., New York 1998

- Trafikowska U., Sobkowiak E., Wiącek M., Zachara B.A., Czerwionka-Szaflarska M., Wpływ podaży selenu matkom na ilość selenu spożywanego przez karmione piersią niemowlęta, *Z. Probl. Post. Nauk Rol.*, 1996, 434, 673-689
- Tuzen M., Saygi K.O., Soylak M., Separation and speciation of selenium in food and water samples by the combination of magnesium hydroxide coprecipitation-graphite furnace atomic absorption spectrometric determination, *Talanta*, 2007, 71, 424-429
- U.S. National Academy of Science, RDA, 9th ed., Washington DC 1980
- Umińska R., Selen w środowisku człowieka, *Roczn. PZH*, 1990, 41, 25-33
- Wang D., Alfthan G., Aro A., Determination of total selenium and dissolved selenium species in natural waters by fluorometry, *Environ. Sci. Technol.*, 1994a, 28, 383-387
- Wang D., Alfthan G., Aro A., Kauppi L., Soveri J., Selenium in tap water and natural water ecosystem in Finland, w: Aitio A., Aro A., Järvisalo J., Vanio H., (red.): Trace elements in health and disease, The Royal Society of Chemistry, Cambridge 1991
- Wang D., Alfthan G., Aro A., Lahermo P., Väänänen P., The impact of selenium fertilization on the distribution of selenium in rivers in Finland, *Agr. Ecosyst. Environ.*, 1994b, 50, 133-149
- Wang D., Alfthan G., Aro A., Mäkelä A., Knuutila S., Hammar T., The impact of selenium supplemented fertilization on selenium in lake ecosystem in Finland, *Agr. Ecosyst. Environ.*, 1995, 54, 137-147
- Wang D., Sippola J., Selenium in soil extracts and plants determined by fluorometry, *Ann. Agr. Fenn.*, Ser Agr. Chem., 1990, 29, 152-156
- Wasowicz W., Gromadzinska J., Rydzynski K., Tomczak J., Selenium status of low-selenium areas residents: Polish Experience, *Toxicol. Lett.*, 2003, 137, 95-101
- WHO: Selenium, w: Trace elements in human nutrition and health, World Health Organisation, Geneva 1996
- Wiackowski S.K., Próba ekologicznej oceny żywienia, żywności i składników pokarmowych, PWN, Warszawa 1995
- Williams W.J., Oznaczanie anionów, PWN, Warszawa 1986
- Woźniak J., Selen - pierwiastek życia, *Farm. Pol.*, 1997, 53, 546-548
- Wu S., Feng X., Wittmeier A., Xu J., Microwave digestion of food and plant reference materials for trace multi-element analysis by ICP-MS with an ultrasonic nebulizer/membrane desolvator, 9th International Symposium on Trace Elements in Man and Animals, Alberta, Canada 1996, 257-259

- Zachara B., Wąsowicz W., Gromadzińska J., Skłodowska M., Stężenie selenu i aktywność peroksydazy glutationowej we krwi mieszkańców Łodzi i okolic, badania wstępne, Roczn. PZH, 1983, 34, 359-368
- Zagrodzki P., Selen w żywieniu człowieka, cz. I. Zawartość selenu w żywności, zalecane i rzeczywiste spożycie selenu, Bromat. Chem. Toksykol., 2000a, 33, 209-214
- Zagrodzki P., Selen w żywieniu człowieka, cz. II. Suplementacja selenem – implikacje biochemiczne, Bromat. Chem. Toksykol., 2000b, 33, 295-298
- Zarawska E., Wybrane rośliny tradycyjnej medycyny chińskiej i japońskiej, Wiad. Ziel., 1997, 12, 1-5
- Zawadzka T., Oznaczanie zawartości selenu w owocach i warzywach, Roczn. PZH, 1982, 33, 397-401
- Zayed A., Lytle M., Terry N., Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants, Planta, 1998, 206, 284-292
- Zhou S., Belzile N., Yu-Wei Chien, Microwave digestion of fish tissues and determination of Cu, Se and Hg by atomic absorption spectrometry, J. Environ. Anal. Chem., 1998, 72, 205-216

WYKAZ TABEL

Tabela 1. Podstawowe właściwości fizykochemiczne selenu.	9
Tabela 2. Najczęściej spotykane nieorganiczne związki selenu.	10
Tabela 3. Organiczne połączenia selenu występujące w organizmach żywych.	11
Tabela 4. Zawartość selenu w wybranych produktach roślinnych w różnych krajach.	26
Tabela 5. Zawartość selenu w mięsie w wybranych krajach.	28
Tabela 6. Zawartość selenu w niektórych gatunkach roślin z rodzaju <i>Astragalus</i> .	35
Tabela 7. Zestawienie analizowanych surowców roślinnych.	52
Tabela 8. Warunki mineralizacji mikrofalowej analizowanych surowców.	58
Tabela 9. Intensywność fluorescencji dla poszczególnych krzywych wzorcowych oraz ocena statystyczna.	60
Tabela 10. Zakres i liniowość krzywej wzorcowej.	60
Tabela 11. Warunki mineralizacji mikrofalowej analizowanych surowców.	62
Tabela 12. Parametry oznaczania metali metodą F-AAS.	62
Tabela 13. Stężenia selenu, miedzi, manganu, cynku i żelaza w materiale referencyjnym.	66
Tabela 14. Zestawienie próbek analizowanych surowców leczniczych z poszczególnych zakładów zielarskich.	68
Tabela 15. Zawartość selenu w analizowanych surowcach roślinnych.	69
Tabela 16. Zawartość oznaczanych pierwiastków metalicznych w roślinnych surowcach leczniczych (zakres stężeń, średnia arytmetyczna \pm odchylenie standardowe, n=3).	77
Tabela 17. Statystyka opisowa zawartości selenu w poszczególnych grupach Roślinnych surowców leczniczych.	87
Tabela 18. Statystyka opisowa zawartości analizowanych pierwiastków w poszczególnych grupach roślinnych surowców leczniczych.	92
Tabela 19. Zawartość selenu, miedzi, manganu, cynku i żelaza w wybranych surowcach leczniczych.	103
Tabela 20. Współczynniki korelacji liniowej pomiędzy oznaczanymi pierwiastkami w analizowanych surowcach.	106
Tabela 21. Wyniki obliczeń PCA w roślinnych surowcach leczniczych.	107

WYKAZ RYSUNKÓW

Rys. 1. Droga metaboliczna selenu w roślinach.	32
Rys. 2. Wykres charakterystyk grupowych dla selenu w analizowanych surowcach leczniczych (bez liścia podbiału).	88
Rys. 3. Średnie arytmetyczne zawartości selenu w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych.	89
Rys. 4. Wykres charakterystyk grupowych dla miedzi w analizowanych surowcach leczniczych	93
Rys. 5. Średnie arytmetyczne zawartości miedzi w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych.	94
Rys. 6. Wykres charakterystyk grupowych dla manganu w analizowanych surowcach leczniczych.	96
Rys. 7. Średnie arytmetyczne zawartości manganu w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych.	97
Rys. 8. Wykres charakterystyk grupowych dla cynku w analizowanych surowcach leczniczych.	98
Rys. 9. Średnie arytmetyczne zawartości cynku w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych.	99
Rys. 10. Wykres charakterystyk grupowych dla żelaza w analizowanych surowcach leczniczych.	101
Rys. 11. Średnie arytmetyczne zawartości żelaza w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych.	102
Rys. 12. Wykres PC1 względem PC2 dla ziół.	108
Rys. 13. Wykres ładunków głównych komponentów dla ziół.	109
Rys. 14. Wykres PC1 względem PC2 dla liści.	110
Rys. 15. Wykres ładunków głównych komponentów dla liści.	111
Rys. 16. Wykres PC1 względem PC2 dla kwiatów.	112
Rys. 17. Wykres ładunków głównych komponentów dla kwiatów.	112
Rys. 18. Wykres PC1 względem PC2 dla korzeni.	113
Rys. 19. Wykres ładunków głównych komponentów dla korzeni.	114
Rys. 20. Wykres PC1 względem PC2 dla owoców i nasion.	115
Rys. 21. Wykres ładunków głównych komponentów dla owoców i nasion.	116
Rys. 22. Dendrogram dla ziół.	117
Rys. 23. Dendrogram dla liści.	118
Rys. 24. Dendrogram dla kwiatów.	119
Rys. 25. Dendrogram dla korzeni.	120
Rys. 26. Dendrogram dla owoców i nasion.	120
Rys. 27. Dendrogram dla oznaczanych pierwiastków w ziołach.	121
Rys. 28. Dendrogram dla oznaczanych pierwiastków w liściach.	122
Rys. 29. Dendrogram dla oznaczanych pierwiastków w kwiatach.	122
Rys. 30. Dendrogram dla oznaczanych pierwiastków w korzeniach.	122
Rys. 31. Dendrogram dla oznaczanych pierwiastków owocach i nasionach.	123

STRESZCZENIE

Dokonując przeglądu piśmiennictwa z ostatnich lat można zauważyć istotny, wzrost zainteresowania selenem, wynikający ze stwierdzenia jego ważnych funkcji fizjologicznych, a także z faktu, że zarówno nadmiar jak i niedobór tego mikroelementu niekorzystnie wpływa na organizm człowieka.

Podstawowym źródłem łatwo przyswajalnego selenu dla człowieka jest pożywienie zarówno pochodzenia roślinnego jak i zwierzęcego. Zawartość selenu w wielu produktach żywnościowych została określona, pozostaje natomiast problem rozpoznania zawartości selenu w roślinach i pozyskiwanych z nich surowcach leczniczych. Nieustające zainteresowanie roślinami leczniczymi jako potencjalnymi lekami wspomagającymi powoduje, że określenie w nich rodzaju i zawartości biogennych pierwiastków jest zagadnieniem ważnym i wciąż aktualnym. Z tego względu zasadniczym celem pracy było oznaczenie zawartości selenu oraz miedzi, manganu, cynku i żelaza w dostępnych w Polsce roślinnych surowcach leczniczych oraz określenie wpływu organu rośliny, z którego surowiec został pozyskany, na poziom oznaczanych pierwiastków. Istotne było także porównanie zawartości oznaczanych pierwiastków w surowcach pochodzących od tego samego gatunku rośliny, pozyskanych z różnych zakładów zielarskich, jak również określenie relacji pomiędzy zawartością analizowanych pierwiastków w badanych grupach surowców.

Materiał do badań składał się z 148 roślinnych surowców leczniczych, takich jak zioła, liście, kwiaty, korzenie oraz owoce i nasiona, pochodzących od 44 gatunków roślin. Analizowano surowce lecznicze uzyskano z firm: Herbapol - Bydgoszcz, Kraków, Lublin i Łódź; Kawon - Gostyń, Boguccy - Kraków, Flos - Mokrsko, Herbalux - Warszawa, Herbalux-Bis – Warszawa i Elanda – Rozprza.

Badany materiał roślinny zmineralizowano za pomocą energii mikrofalowej, stosując mineralizator mikrofalowy UniClever™ BM-1z, Plazmatronika, Wrocław oraz stężony kwas azotowy(V).

Selen oznaczono metodą spektrofotometryczną, stosując spektrometr Luminescence LS 50B, Perkin Elmer. W oznaczeniach wykorzystano barwną reakcję selenu(IV) z 2,3-diaminonaftalenem (DAN). W wyniku tej reakcji tworzy się 4,5-benzopiazoselenol, dla którego wykonano pomiar spektrofotometryczny przy fali wzbudzenia o długości 377 nm i emisji 522 nm. Ponieważ DAN wiąże się specyficznie z selenem na +4 stopniu utlenienia

konieczna, była ilościowa redukcja selenu w mineralizatach przeprowadzona przy użyciu stężonego kwasu solnego.

Pierwiastki metaliczne w badanym materiale roślinnym po mineralizacji mikrofalowej oznaczono metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej, wykorzystując atomizację płomieniową (F-AAS).

Precyzję i odzysk użytych do oznaczeń metod sprawdzono przy użyciu materiału referencyjnego Virginia Tobacco Leaves (CTA-VTL-2, LGC Promochem) dla selenu, Tea Leaves (INCT-TL-1, LGC Promochem) dla miedzi i cynku oraz Tomato Leaves (1573a, NIST) dla manganu i żelaza. Średni odzysk dla selenu wyniósł 75,38%, natomiast dla metali od 99,36% do 117,22%.

W wyniku przeprowadzonych oznaczeń stwierdzono, że ilość selenu w surowcach roślinnych waha się w granicach od kilku do kilkunastu lub kilkudziesięciu nanogramów w gramie suchej masy surowca. Stwierdzono także występowanie kilku surowców, w których poziom selenu przekroczył 100 ng/g, tj. liść podbiału (623,8; 201,8; 142,5; 108,4 ng/g), korzeń cykorii podróżnika (152,9; 130,9 ng/g) i ziele skrzypu (133,7 ng/g). Wysokie stężenie selenu oznaczono także w ziele majeranku i owocu głogu.

Zawartość selenu w poszczególnych grupach surowców jest do siebie zbliżona, z wyjątkiem próbek o skrajnie wysokim stężeniu selenu, które występowały w każdej grupie, oprócz kwiatów. Biorąc pod uwagę średnią zawartość selenu w poszczególnych grupach surowców leczniczych, z wyłączeniem próbek o zawartości selenu powyżej 100 ng/g s.m. surowca, można uszeregować je w następującej kolejności: owoce i nasiona, zioła, liście, kwiaty oraz korzenie.

Największą średnią zawartością selenu w badanych surowcach charakteryzują się owoce i nasiona (32,08 ng/g). Wśród nich najwyższe stężenie selenu stwierdzono w owocu głogu (Fr.19) pochodzącym z firmy Herbapol – Bydgoszcz. Wynosi ono 76,88 ng/g i jest wyższe w porównaniu z wartościami dla pozostałych próbek tego surowca. Wysoką zawartość selenu prezentują także nasiona lnu 68,32 ng/g (Se.26) i 50,00 ng/g (Se.27).

Bogatym źródłem selenu są również zioła (średnia zawartość 22,93 ng/g). W grupie tej najwyższe stężenie selenu wykryto w liściu skrzypu (He.36, Kawon – Gostyń), wynoszące 133,7 ng/g. Wysoką zawartość selenu prezentują także próbki ziela majeranku, He.13 – 63,04 ng/g i He.14 – 86,16 ng/g. Istotnym źródłem selenu są także próbki ziela macierzanki o zawartości odpowiednio 44,91; 39,40 i 47,85 ng/g.

Rozpatrując zawartość selenu w grupie liści można stwierdzić, że w przypadku większości próbek stężenie oznaczanego pierwiastka waha się w granicach od 15 do 25 ng/g

suchej masy surowca przy wartości średniej rzędu 21,92 ng/g. W grupie tej występuje próbka o najwyższej zawartości selenu wśród wszystkich oznaczanych surowców leczniczych, jest nią liść podbiału Fo.16, Kawon – Gostyń. Zawiera on 623,8 ng Se/g s.m., przy czym ilość tego pierwiastka w pozostałych próbkach tego samego surowca jest już niższa i wynosi odpowiednio Fo.15 – 201,8 ng/g, Fo.17 – 108,4 ng/g i Fo.18 – 142,5 ng/g.

Porównując stężenie selenu w surowcach pochodzących od tego samego gatunku rośliny leczniczej, ale z różnych zakładów zielarskich, zaobserwowano zróżnicowanie zawartości oznaczanego pierwiastka w zależności od producenta, czego przykładem jest ziele majeranku i krwawnika. Stwierdzono także różnice w zawartości selenu w obrębie próbek pochodzących od tego samego producenta. Zauważono ponadto, że próbki surowców pochodzących z zakładu zielarskiego Kawon – Gostyń charakteryzują się wyższą zawartością selenu w porównaniu z surowcami pochodzącymi z firmy Boguccy – Kraków.

Rozpatrując zawartość miedzi w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych stwierdzono, że waha się ona w granicach od kilku do kilkunastu μg w gramie suchej masy surowca. Najwyższą średnią zawartością miedzi wśród badanych surowców charakteryzują się kwiaty, 11,37 $\mu\text{g/g}$ s.m. surowca, a najmniejszą ilością liście 7,05 $\mu\text{g/g}$.

Biorąc pod uwagę średnią zawartość miedzi w kolejnych grupach analizowanych surowców, można je uszeregować w następującej kolejności: kwiaty, korzenie, owoce i nasiona, zioła oraz liście.

Przeprowadzone oznaczenia wykazały, że w porównaniu z pozostałymi pierwiastkami, zawartość manganu w analizowanych roślinnych surowcach leczniczych jest wysoka. Ilość tego pierwiastka w poszczególnych grupach surowców jest różna i wykazuje duże zróżnicowanie w obrębie danej grupy.

Najzasobniejszą w mangan grupą surowców są liście (137,26 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Wśród nich największą zawartość tego pierwiastka stwierdzono w liściu jeżyny (Fo.13), pochodzącym z firmy Kawon - Gostyń. Wynosi ona 311,68 $\mu\text{g/g}$ s.m. i jest nieznacznie wyższa w porównaniu z ilością manganu w pozostałych próbkach tego samego surowca (Fo.11 - 275,50 $\mu\text{g/g}$ s.m.; Fo.12 - 283,83 $\mu\text{g/g}$ s.m.; Fo.14 - 278,21 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Bogatym źródłem manganu są również zioła (97,46 $\mu\text{g/g}$ s.m.).

Z analizy średnich zawartości manganu w poszczególnych grupach badanych surowców roślinnych wynika, że korzenie oraz owoce i nasiona w porównaniu z pozostałymi grupami surowców stanowią ubogie źródło manganu.

W efekcie analizy wyników oznaczeń cynku we wszystkich próbkach roślinnych surowców leczniczych stwierdzono, że zawartość tego pierwiastka oscyluje w granicach od

kilku do kilkunastu lub kilkudziesięciu μg w gramie suchej masy surowca, jak również, że poza nielicznymi wyjątkami, jego ilość w ziołach i liściach jest średnio o połowę wyższa niż w pozostałych grupach surowców.

Bogatym źródłem cynku, podobnie jak i manganu, wśród badanych surowców są zioła (44,82 $\mu\text{g/g}$) oraz liście (41,61 $\mu\text{g/g}$). Interesującą pod względem zawartości cynku grupą są korzenie. Pomimo tego, że średnie stężenie badanego mikroelementu wynosi 29,18 $\mu\text{g/g}$, zaobserwowano w niej duży rozrzut zawartości cynku w kolejnych surowcach.

Biorąc pod uwagę średnią zawartość cynku w poszczególnych grupach badanych surowców, można je uszeregować w sposób zbliżony do zawartości manganu: zioła, liście, korzenie, kwiaty, owoce i nasiona.

Zawartość żelaza w badanym materiale roślinnym kształtuje się na poziomie od 101,30 $\mu\text{g/g}$ s.m. w owocach i nasionach do 451,43 $\mu\text{g/g}$ s.m. w liściach. Najwyższe stężenie tego pierwiastka stwierdzono w próbce liścia majeranku (Fo.29), otrzymanej z zakładu zielarskiego Herbapol - Łódź (1371,42 $\mu\text{g/g}$). Oprócz liści, duże ilości żelaza wykryto także w korzeniach (447,27 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Owoce i nasiona, podobnie jak w przypadku manganu i cynku, stanowią najuboższe źródło omawianego pierwiastka.

Zastosowanie analizy korelacji pozwoliło stwierdzić występowanie wprost i odwrotnie proporcjonalnych zależności pomiędzy oznaczanymi pierwiastkami, określanych jako dodatnie i ujemne korelacje. W grupie ziół zanotowano dodatnią korelację pomiędzy Cu i Mn, Fe i Cu oraz Mn i Zn. Wśród liści stwierdzono trzy korelacje dodatnie i jedną ujemną. Dodatnie korelacje występowały pomiędzy Mn-Zn i Fe-Zn, natomiast korelację wysoką reprezentowała para Fe-Cu. Ujemna korelacja występowała natomiast w parze Fe-Mn.

W grupie kwiatów i korzeni zaobserwowano korelacje dodatnie w parach Mn-Zn (kwiaty) i Fe-Cu (korzenie). Ponadto w analizowanej grupie owoców i nasion zanotowano korelację bardzo wysoką pomiędzy Cu i Zn, korelację wysoką między Fe i Zn oraz korelację o niskiej wartości współczynnika r w parze pierwiastków Fe-Cu. Dwie ujemne korelacje stwierdzono w parach Se-Cu (korzenie) oraz Se-Mn (owoce i nasiona).

Metodę głównych składowych użyto do interpretacji danych uzyskanych z badań nad zawartością selenu i pierwiastków metalicznych w roślinnych surowcach leczniczych. Wartość PC1 największą część zmienności wyjaśnia w owocach i nasionach (44,76% wariacji), a następnie w grupie liści i korzeni. Duży udział w wyjaśnianiu zmienności próbek z grupy owoców i nasion oraz ziół bierze także druga główna składowa (ponad 31% wariacji). Trzecia główna składowa wyjaśnia ponad 17% zmienności we wszystkich grupach surowców, z wyjątkiem owoców i nasion. PC1 i PC2 opisują łącznie ponad 60% badanej

zmienności w korzeniach, ziołach i liściach, natomiast w grupie owoców i nasion 76,15% zmienności.

Zastosowanie metody głównych składowych oraz analizy skupień pozwoliło na wyodrębnienie surowców o zbliżonym składzie pierwiastkowym. Stwierdzono, że skupienia tworzą przede wszystkim surowce pochodzące z tego samego gatunku rośliny leczniczej.

Analizę skupień zastosowano również do grupowania pierwiastków w poszczególnych grupach roślinnych surowców leczniczych. Interpretacja wyników obliczeń techniką analizy skupień dowiodła, że można potraktować ją jako uzupełnienie, a także potwierdzenie wyników analizy korelacji. Skupienia utworzone na najniższym poziomie wiązań opisywały często pary pierwiastków o wysokiej wartości współczynnika korelacji.

Wyniki prezentowane w rozprawie doktorskiej były częściowo przedmiotem publikacji:

w czasopismach z IF:

1. Wesołowski M., Ulewicz B.: The content of selenium and some elements in raw plant materials used in medicine. Polish Journal of Environmental Studies 8, 138-141, 1999. IF = 0,353
2. Wesołowski M., Koniecznyński P., Ulewicz B.: Influence of the elemental composition of medicinal fruits on the results of their thermal analysis. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 60, 299-304, 2000. IF = 1,425
3. Wesołowski M., Koniecznyński P., Ulewicz-Magulska B.: Thermal decomposition of medicinal plant raw materials based on principal component analysis. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 66, 593-601, 2001. IF = 1,425

w pozostałych czasopismach:

4. Wesołowski M., Ulewicz B.: Selen – pierwiastek śladowy niezbędny dla człowieka. Występowanie, znaczenie biologiczne i toksyczność. Farmacja Polska 56, 1004-1019, 2000.
5. Ulewicz-Magulska B., Wesołowski M.: Selen jako naturalny składnik mineralny produktów żywnościowych pochodzenia roślinnego. Farmacja Polska 63, 869-876, 2007.
6. Wesołowski M., Ulewicz-Magulska B.: The content and relationship between selenium, zinc, nickel and lead in raw plant materials used in medicine. Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych 31, 188-192, 2007.
7. Ulewicz-Magulska B., Baranowska M., Wesołowski M.: Suplementy diety. Farmacja Polska, w druku w zeszytach Farmacja po dyplomie, 2008.

rozdział w monografii:

8. Wesołowski M., Ulewicz B.: Selen w środowisku naturalnym i jego znaczenie dla organizmu. w: *Degradacja środowiska przyrodniczego a zdrowie człowieka*. Tarnowska Agencja Rozwoju Regionalnego SA, Tarnów 1998, p. 415-419.

Opublikowane streszczenia komunikatów naukowych

1. Wesołowski M., Koniecznyński P., Ulewicz B.: Wpływ składu pierwiastkowego roślinnych surowców leczniczych na przebieg ich rozkładu termicznego. VII Krajowe Seminarium im. Prof. St. Bretsznajdera, Politechnika Warszawska, Instytut Chemii w Płocku, Zakopane, 7-11 wrzesień 1998. Materiały seminaryjne, P-39, p. 368-370.
2. Wesołowski M., Ulewicz B.: Selenium in the natural environment and its significance for human organism. V Krajowy Kongres Ekologiczny EKO-MED Tarnów'98 nt. „Degradacja środowiska przyrodniczego a zdrowie człowieka”, Tarnów, 19-21 listopad 1998. Informator Kongresu, Streszczenia prac naukowych, P-26, p. 161-163.

3. Wesołowski M., Ulewicz B.: Rozpoznanie zawartości i rozmieszczenie selenu w roślinnych surowcach leczniczych. VI Konferencja Naukowa – Scholar pro-eco, aktywna edukacja ekologiczna nt. „Skażenie środowiska a zdrowie”, Augustów, 6-7 wrzesień 1999. Streszczenia, p. 73.
4. Wesołowski M., Ulewicz B.: Zawartość selenu i wybranych pierwiastków w ziołach, korzeniach i owocach. XLII Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego, Rzeszów, 6-10 wrzesień 1999. Streszczenia prac, S-1, P-32.
5. Wesołowski M., Ulewicz B.: Zawartość i rozmieszczenie selenu w roślinnych surowcach leczniczych. Sympozjum nt. „Witaminy i mikroelementy – produkcja, analityka i racjonalne stosowanie”, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Oddział w Poznaniu, Poznań, 12 maj 2000. Streszczenia, P-24, p. 44.
6. Wesołowski M., Koniecznyński P., Ulewicz B.: Thermal decomposition of medicinal plant raw materials. 8th Conference on Calorimetry and Thermal Analysis of PTKAT (CCTA 8) and International Symposium on Thermodynamics and Structure of Liquids, Zakopane, September 3-8, 2000. Abstracts, III-P9, p. 145-146.
7. Wesołowski M., Ulewicz B.: Zawartość selenu w wybranych roślinnych surowcach leczniczych. Konferencja nt. „Toksykologiczne i farmakologiczne aspekty działania kseno-biotyków”, Olsztyn, 7-8 wrzesień 2000. Streszczenia, p. 96.
8. Wesołowski M., Ulewicz-Magulska B.: Spektrofluorymetryczne oznaczanie selenu w roślinnych surowcach leczniczych. XVIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego nt. „Farmacja w XXI wieku”, Poznań, 19-22 wrzesień 2001. Streszczenia, tom II, S.11, P-61, p. 529-530.
9. Wesołowski M., Ulewicz-Magulska B.: The content of selenium in raw plant materials used in medicine. Euroanalysis 12, European Conference on Analytical Chemistry, Gesellschaft Deutscher Chemiker and University of Dortmund, Germany, September 8-13, 2002. Programme and Abstracts of the Scientific Contributions, P2-144, p. 569.
10. Wesołowski M., Ulewicz-Magulska B.: Zawartość i wzajemne relacje między selenem, cynkiem, niklem i ołowiem w roślinnych surowcach leczniczych (The content and relationship between selenium, zinc, nickel and lead in raw plant materials used in medicine). VII Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna nt. „Obieg pierwiastków w przyrodzie: bioakumulacja, toksyczność, przeciwdziałanie. Integracja europejska”, Warszawa, 22-23 września 2007. Streszczenia, p. 52-53.