

Selen und seine Verbindungen – Bestimmung von Selen (gesamt) in Urin mittels ICP-MS

Biomonitoring-Methode

T. Jäger¹

P. Genser¹

P. Heitland²

T. Göen^{3,*}

A. Hartwig^{4,*}

MAK Commission^{5,*}

Keywords

Selen; Gesamtselen;
Biomonitoring; Urin; ICP-MS

¹ Methodenentwicklung, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Henkestraße 9–11, 91054 Erlangen

² Methodenprüfung, MVZ Medizinisches Labor Bremen GmbH, Haferwende 12, 28357 Bremen

³ Methodenentwicklung, Leitung der Arbeitsgruppe „Analysen in biologischem Material“ der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Institut und Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Henkestraße 9–11, 91054 Erlangen

⁴ Vorsitz der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

⁵ Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* E-Mail: T. Göen (thomas.goen@fau.de), A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Abstract

The working group “Analyses in Biological Materials” of the Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area developed and verified the presented biomonitoring method.

Selenium is used in different industrial processes. In the workplace, employees are mainly exposed to elementary selenium and inorganic selenium compounds. In contrast, the non-occupationally exposed general population ingests mainly organic selenium compounds, like selenomethionine and selenocysteine, via the diet. Following exposure, selenium can be determined in serum/plasma and in whole blood/erythrocytes. While the selenium concentrations in these matrices reflect exposure from recent weeks or even months, urinary selenium concentrations are suitable for the determination of short-term exposure (e.g. of the last shift).

The aim of this work was to develop a selective method for the determination of total selenium in urine while avoiding the selenium enhancement effect caused by volatile selenium species (e.g. dimethyl selenide or dimethyl diselenide). The method has been comprehensively verified, and the reliability data have been confirmed by replication and verification of the procedure in a second, independent laboratory.

Urine samples are mineralised by microwave-assisted digestion using an acidic hydrogen peroxide-containing solution, thereby converting the various selenium species present in the urine into selenite. The selenium concentrations in the diluted digestion solutions are determined by mass spectrometry with inductively coupled plasma (ICP-MS) on $m/z=78$. Germanium is used as internal standard.

The microwave-assisted digestion allows for the accurate quantification of total selenium in urine even when volatile selenium species are present in the samples.

Citation Note:

Jäger T, Genser P, Heitland P, Göen T, Hartwig A, MAK Commission. Selen und seine Verbindungen – Bestimmung von Selen (gesamt) in Urin mittels ICP-MS. Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf. 2023 Mrz;8(1):Doc029. https://doi.org/10.34865/bi778249d8_1or

Manuskript abgeschlossen:
14 Jun 2022

Publikationsdatum:
30 Mrz 2023

Lizenz: Dieses Werk ist
lizenziert unter einer [Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz](#).



The good precision and accuracy data show that the method provides reliable and accurate measurement values. The method is both selective and sensitive, and the quantitation limit of 0.5 µg/l urine is sufficient to determine occupational as well as background exposure to selenium and its compounds.

1 Kenndaten der Methode

| | |
|---------------------------------|--|
| Matrix | Urin |
| Analytisches Messprinzip | Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) |

Parameter und entsprechende Arbeitsstoffe

| Arbeitsstoff | CAS-Nr. | Parameter | CAS-Nr. |
|------------------|------------|-----------|-----------|
| Selen | 7782-49-2 | Selen | 7782-49-2 |
| Selendioxid | 7446-08-4 | | |
| Selentrioxid | 13768-86-0 | | |
| Selenat | 14124-68-6 | | |
| Selenit | 14124-67-5 | | |
| Selenwasserstoff | 7783-07-5 | | |

Zuverlässigkeitskriterien

Selen

| | | |
|---------------------------|---|-----------------------------------|
| Präzision in der Serie: | Standardabweichung (rel.) | $s_w = 2,2\%$ bzw. 1,0% |
| | Streubereich bei einer dotierten Konzentration von 41,9 µg bzw. 327 µg Selen pro Liter Urin und n = 8 Bestimmungen | $u = 5,2\%$ bzw. 2,4% |
| Präzision von Tag zu Tag: | Standardabweichung (rel.) | $s_w = 5,8\%$ bzw. 5,3% |
| | Streubereich bei einer dotierten Konzentration von 41,9 µg bzw. 327 µg Selen pro Liter Urin und n = 6 Bestimmungen | $u = 14,9\%$ bzw. 13,4% |
| Richtigkeit: | Wiederfindungsrate (rel.) bei einer Sollkonzentration von 8 µg, 41,9 µg, 230 µg bzw. 327 µg Selen pro Liter Urin und n = 3 Bestimmungen | $r = 91\%$, 101%, 86%, bzw. 102% |
| Nachweisgrenze: | 0,2 µg Selen pro Liter Urin | |
| Bestimmungsgrenze: | 0,5 µg Selen pro Liter Urin | |

2 Allgemeine Informationen zu Selen und seinen Verbindungen

Selen (Se; rel. Atommasse: 78,97; Ordnungszahl 34) ist ein Halbmetall der 6. Hauptgruppe des Periodensystems und kommt mit den natürlichen Isotopen ⁷⁴Se (0,9 %), ⁷⁶Se (9,0 %), ⁷⁷Se (7,6 %), ⁷⁸Se (23,5 %), ⁸⁰Se (49,8 %) und ⁸²Se (9,2 %) vor. Reine Selenminerale sind sehr selten, hingegen finden sich Selenide häufig in kleinen Mengen mit den isomorphen Sulfiden vergesellschaftet. So kommt es beispielsweise in Eisensulfiden, Zinkblende und Kupferkies vor und reichert sich beim Abrösten dieser Erze als Selendioxid in der Flugasche an. Eine Hauptquelle der Selengewinnung stellt der

Anodenschlamm der elektrolytischen Kupferraffination dar (RÖMPP-Redaktion und Hartwig 2006). Die wichtigsten Selenproduzenten sind China, Japan, Deutschland, Belgien und Russland, wobei die weltweite Produktion im Jahr 2020 ca. 3300 t betrug (Austrian Federal Ministry of Finance 2022).

Selen ist für die Industrie von großer Bedeutung und wird vor allem in der Glas- und Keramikindustrie, der Metallindustrie, der chemischen Industrie und in der Elektrotechnik verwendet. So wird es zum Färben und Entfärben von Glas, für die Herstellung von Legierungen, die Vulkanisierung von Kautschuk, die Herstellung von Düngemitteln und Pigmenten und in der Solarzellenfertigung verwendet (Langner 2000; RÖMPP-Redaktion und Hartwig 2006).

Für den Menschen stellt Selen ein essenzielles Spurenelement dar. In Form von Selenocystein ist es struktureller Bestandteil von über 25 verschiedenen Enzymen und kommt beispielsweise in Glutathionperoxidasen, Thioredoxinreduktasen und Iodthyronin-Deiodasen vor (Lu und Holmgren 2009). Dadurch ist Selen an einer Reihe physiologischer Prozesse beteiligt, wie an der Abwehr von oxidativem Stress, an redoxregulierten Signalwegen und an der Synthese von Schilddrüsenhormonen (Rayman 2000, 2012). Die außerberufliche Exposition gegen Selen erfolgt in erster Linie über die Nahrung, wobei eine tägliche Aufnahme von 70 µg (Männer) bzw. 60 µg (Frauen) empfohlen wird (D-A-CH 2016). Die tolerierbare Tageshöchstmenge (*Tolerable Upper Intake Level*) liegt bei 300 µg Selen (SCF und NDA 2006).

Beschäftigte am Arbeitsplatz sind vor allem gegen elementares Selen und anorganische Selenverbindungen exponiert, wobei die Selenverbindungen in Form überwiegend wasserlöslicher anorganischer Verbindungen oral, inhalativ und dermal aufgenommen werden können. Hingegen nimmt die beruflich nicht belastete Allgemeinbevölkerung über die Nahrung überwiegend organische Selenverbindungen wie Selenomethionin und Selenocystein auf (WHO 1987). Die oralen Resorptionsquoten der anorganischen Selenite und Selenate liegen bei 62–84 % und 92–94 %, die der organischen Selenverbindungen bei 75–95 % (Rettenmeier 2011). Der Metabolismus des Selen und seiner Verbindungen ist in den von der Kommission veröffentlichten Methoden zur Bestimmung verschiedener Selenspezies ausführlich dargestellt (Hildebrand et al. 2022 a, b; Jäger et al. 2022).

Die Eliminierung von Selen erfolgt biphasisch mit mittleren Halbwertszeiten von $2,4 \pm 0,3$ und 162 ± 9 Tagen. Anorganische Selenite oder Selenate werden rascher als die organischen Selenverbindungen (wie Selenomethionin) ausgeschieden, was mit dem Einbau des Selenomethionins in Proteine erklärt wird (RKI 2006).

Die Beurteilung der essenziellen Selenversorgung sowie einer darüberhinausgehenden Selenbelastung erfolgt in der Regel über den Selenspiegel im Serum bzw. Plasma (Kurzzeitstatus) oder im Vollblut bzw. in den Erythrozyten (Langzeitstatus) (Rettenmeier 2011). In den genannten Matrices wird die Selenaufnahme der letzten Wochen und Monate abgebildet, nicht jedoch eine kurzzeitige Exposition in den vergangenen Stunden. Der Selengehalt im Urin eignet sich aufgrund seines schnellen Anstiegs nach Exposition auch zur Bestimmung einer solchen kurzzeitigen Exposition (Göen und Greiner 2018; Greiner et al. 2020).

Selenkonzentrationen im Urin der beruflich nicht belasteten Allgemeinbevölkerung in Deutschland und außerhalb Deutschlands sind exemplarisch in Tabelle 1 und 2 zusammengestellt. In Tabelle 3 sind Daten zur renalen Selenausscheidung nach beruflicher Exposition aufgelistet.

Tab.1 Selenkonzentrationen im Urin der beruflich nicht belasteten Allgemeinbevölkerung in Deutschland

| Kollektiv (Personenanzahl n) | Mittelwert \pm SD (Bereich) | Literatur |
|------------------------------|--|--------------------------|
| Erwachsene (n = 18) | 16,0 \pm 4,6 µg/l (9–23 µg/l) | Schierling et al. 1982 |
| Erwachsene (n = 24) | 14,8 \pm 6,9 µg/l (3,2–26,3 µg/l) 13,0 \pm 3,8 µg/g Kreatinin (6,3–20,0 µg/g Kreatinin) | Oster und Prellwitz 1990 |
| Erwachsene (n = 87) | 14 µg/l (3–60 µg/l) | Heitland und Köster 2006 |
| Erwachsene (n = 47) | 10,4 µg/l (3,5–39,6 µg/l) ^{a)} 15,7 µg/g Kreatinin (8,5–39,1 µg/g Kreatinin) ^{a)} | Jäger et al. 2013 |
| Erwachsene (n = 102) | 14,1 µg/l (1,8–52 µg/l) | Heitland und Köster 2021 |

^{a)} Median (Bereich)

Tab. 2 Selenkonzentrationen im Urin der beruflich nicht belasteten Allgemeinbevölkerung außerhalb Deutschlands

| Land | Kollektiv (Personenanzahl n) | Geometrischer Mittelwert (95. Perzentil) | Literatur |
|------------------------|--|--|--------------------------|
| Belgien | Erwachsene (n = 1001) | 25,1 µg/l (61,6 µg/l) | Hoet et al. 2013 |
| Kanada | Kinder und Erwachsene (6–79 Jahre; n = 5738) | 51 µg/l (130 µg/l) | Health Canada 2013 |
| Slowenien | Erwachsene (n = 812) | 13,5 µg/l (0,50–121 µg/l) ^{a)} | Snoj Tratnik et al. 2019 |
| Vereinigtes Königreich | Erwachsene (n = 132) | 13,4 µg/l (33,4 µg/l) ^{b)} | Morton et al. 2014 |

^{a)} Geometrischer Mittelwert (Bereich)

^{b)} Median = berechneter Wert (95. Perzentil)

Tab. 3 Selenkonzentrationen im Urin von Beschäftigten

| Kollektiv (Personenanzahl n) | Probenmatrix | Mittelwert ± SD (Bereich) | | Literatur |
|---|--------------------|---|--|---------------------|
| | | Beschäftigte | Kontrollen | |
| Herstellung von Selen-Gleichrichtern, England (1517 Proben von 200–300 Arbeitern; 793 Kontrollen) | Urin | 84 µg/l (20–4900 µg/l) | 34 ± 24 µg/l (0–150 µg/l) | Glover 1967 |
| Selenverarbeitender Betrieb, Deutschland (20; 20 Kontrollen) | Urin (Nachschicht) | 107 µg/g Kreatinin (16–816 µg/g Kreatinin) ^{a)} | 23 µg/g Kreatinin (12–50 µg/g Kreatinin) ^{a)} | Göen et al. 2015 |
| Kupferraffinerie, Kanada (20; 20 Kontrollen) | Urin | 92,9 ± 42,8 µg/l (34,0–190 µg/l) | 74,6 ± 25,3 µg/l (26,7–118 µg/l) | Rajotte et al. 1996 |
| Stahlproduktion, Taiwan (23; 23 Kontrollen) | Urin | 67,7 ± 27,4 µg/l (24,1–114 µg/l) | 33,2 ± 12,9 µg/l (13,0–58,9 µg/l) | Horng et al. 1999 |
| Selenverarbeitender Betrieb, Deutschland (14; 18 Kontrollen) | Urin (Vorschicht) | 50,6 µg/g Kreatinin (20,7–253 µg/g Kreatinin) ^{a)} | 18,7 µg/g Kreatinin (9,20–40,6 µg/g Kreatinin) ^{a)} | Greiner et al. 2020 |
| | Urin (Nachschicht) | 71,8 µg/g Kreatinin (22,1–340 µg/g Kreatinin) ^{a)} | | |

^{a)} Median (Bereich)

Für Selen und seine anorganischen Verbindungen hat die Kommission einen Biologischen Arbeitsstoff-Toleranzwert (BAT-Wert) von 150 µg Selen/l Plasma und eine maximale Arbeitsplatz-Konzentration (MAK-Wert) von 0,02 mg Selen/m³ E (einatembare Fraktion, als Selen berechnet) abgeleitet. Selen und seine anorganischen Verbindungen sind außerdem in die Kanzerogenitäts-Kategorie 3 eingestuft und wegen der gegebenen Gefahr durch Hautresorption mit einem „H“ markiert. Details zur toxikologischen Bewertung können den entsprechenden Dokumentationen der Kommission entnommen werden (DFG 2022; Hartwig 2011, 2014; Rettenmeier 2011). Darüber hinaus hat die Kommission für die Matrix Urin einen Biologischen Arbeitsstoff-Referenzwert (BAR) von 30 µg Selen/g Kreatinin abgeleitet (Greiner et al. 2021). Zur Ableitung dieses BAR wurden nur deutsche und westeuropäische Studien herangezogen, da die unterschiedlichen Selengehalte der Böden die Selenkonzentration in den Lebensmitteln und damit die Selenaufnahme stark beeinflussen (Combs 2001).

Aufgrund des unterschiedlichen toxikologischen Potentials der aufgenommenen oder metabolisch gebildeten Selenverbindungen (Nuttall 2006) ist eine analytische Unterscheidung der im Urin vorliegenden Selenspezies für einige Fragestellungen bei beruflicher und nicht-beruflicher Exposition relevant. Die Kommission hat aus diesem Grund drei Methoden für die Bestimmung von Selenozucker 1, Selenozucker 2, Selenomethionin, Selenoethionin, methylseleniger Säure, Se-Methylselenocystein und Se-Methylselenoglutathion (Hildebrand et al. 2022 a), Selenit und Selenat (Jäger et al. 2022), sowie Selenozucker 3 und Trimethylselenonium (Hildebrand et al. 2022 b) in Urin entwickelt und veröffentlicht.

3 Grundlage des Verfahrens

Die im Folgenden beschriebene analytische Methode dient der quantitativen Bestimmung von Selen (gesamt) in Urin, wobei die niedrige Bestimmungsgrenze auch die Quantifizierung sehr geringer Selengehalte im Urin erlaubt.

Um systematische Fehler durch flüchtige Selenkomponenten in realen Proben zu vermeiden und zur besseren Matrixanpassung, wird zur Probenvorbereitung ein Aufschluss durchgeführt. Dazu werden die Urinproben mit der wasserstoffperoxidhaltigen, sauren Aufschlusslösung verdünnt und anschließend durch mikrowellenunterstützten Druckaufschluss mineralisiert. Die verschiedenen im Urin vorliegenden Selenspezies werden dabei in anorganisches Selen, nach Wang et al. (2001) in Selenit, überführt.

Der Selengehalt in den aufgearbeiteten Proben wird schließlich mittels ICP-MS mit dem ausgewählten Isotop ^{78}Se bestimmt. Die Kalibrierung erfolgt mit matrixangepassten Vergleichsstandards, die in gleicher Weise wie die zu messenden Proben aufbereitet und gemessen werden. Germanium wird den Proben als interner Standard zugesetzt.

4 Geräte, Chemikalien und Lösungen

4.1 Geräte

- Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma und Oktopol-Reaktionszelle (z. B. Agilent 7500cx, Agilent Technologies Germany GmbH & Co. KG, Waldbronn)
- ICP-MS-Autosampler (z. B. Agilent ASX-500 Series ICP-MS Autosampler, Agilent Technologies Germany GmbH & Co. KG, Waldbronn)
- Mikrowellenaufschlussystem (z. B. Multiwave 3000 mit 8SXF100-Rotor, Anton Paar Germany GmbH, Ostfildern-Scharnhausen)
- 100-ml-Aufschlussgefäße aus Polytetrafluorethylen (z. B. Anton Paar Germany GmbH, Ostfildern-Scharnhausen)
- Vortexmischer (z. B. ROTILABO[®] Mini Vortex, Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe)
- 13-ml- und 50-ml-Polypropylenröhrchen (z. B. Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht)
- 125-ml-Probenbehälter aus Polypropylen mit Schraubverschluss (z. B. VWR International GmbH, Darmstadt)
- 10-ml-Messkolben aus Polypropylen (z. B. VWR International GmbH, Darmstadt)
- 100-ml-Messzylinder aus Polypropylen (z. B. VWR International GmbH, Darmstadt)
- Verschiedene Kolbenhubpipetten (z. B. Eppendorf AG, Hamburg)
- Urinbecher (z. B. Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht)
- Urin-Monovetten[®] (z. B. Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht)

4.2 Chemikalien

Wenn nicht anders angegeben, sind alle genannten Chemikalien mindestens in p. a.-Qualität zu verwenden.

- Selen-ICP-Standard 1000 mg/l, rückföhrbar auf SRM von NIST, SeO_2 in HNO_3 2–3 %, Certipur[®] (z. B. Nr. 1703500, Merck KGaA, Darmstadt)
- Germanium-ICP-Standard 1000 mg/l, rückföhrbar auf SRM von NIST, $(\text{NH}_4)_2\text{GeF}_6$ in H_2O , Certipur[®] (z. B. Nr. 1703200, Merck KGaA, Darmstadt)
- Salpetersäure 65 %, Suprapur[®] (z. B. Nr. 100441, Merck KGaA, Darmstadt)
- Salzsäure 30 %, Suprapur[®] (z. B. Nr. 100318, Merck KGaA, Darmstadt)

- Wasserstoffperoxid 30 %, Suprapur® (z. B. Nr. 107298, Merck KGaA, Darmstadt)
- Hochreines Wasser (z. B. Milli-Q® Direct Wasseraufbereitungssystem, Merck KGaA, Darmstadt)
- Argon 4.6 (z. B. Linde AG, Pullach)
- Wasserstoff N50 (z. B. AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Leipzig)

4.3 Lösungen

- Salpetersäure (3%)

In einem 125-ml-Probenbehälter werden 95 ml hochreines Wasser vorgelegt und vorsichtig 4,6 ml der 65%igen Salpetersäure dazugegeben. Das Gefäß wird verschlossen und die Lösung durch Umschütteln durchmischt.

Die 3%ige Salpetersäure wird bei 4–6 °C im Kühlschrank gelagert.

4.4 Interner Standard (ISTD)

- ISTD-Dotierlösung (500 µg/l)

In einem 250-ml-Messkolben werden ca. 200 ml hochreines Wasser vorgelegt. Anschließend werden 125 µl des Germanium-ICP-Standards (1000 mg/l) hinzupipettiert. Der Messkolben wird mit hochreinem Wasser bis zur Markierung aufgefüllt.

Die Dotierlösung des als internen Standard verwendeten Germaniums kann bei 4–6 °C im Kühlschrank gelagert werden.

4.5 Kalibrierstandards

- Dotierlösung I (10 mg/l)

100 µl des Selen-ICP-Standards (1000 mg/l) werden in einen 10-ml-Messkolben pipettiert, anschließend wird der Kolben mit hochreinem Wasser bis zur Markierung aufgefüllt.

- Dotierlösung II (100 µg/l)

100 µl der Dotierlösung I werden in einen 10-ml-Messkolben pipettiert, anschließend wird der Kolben mit hochreinem Wasser bis zur Markierung aufgefüllt.

Die Dotierlösungen des Selens können bei 4–6 °C im Kühlschrank gelagert werden.

Die Kalibrierstandards werden im Konzentrationsbereich von 0,5–350 µg Se/l in Poolurin von Personen ohne berufliche Selenexposition angesetzt. Dazu werden die Dotierlösungen gemäß dem in [Tabelle 4](#) angegebenen Pipettierschema in 10-ml-Messkolben pipettiert und diese mit Poolurin bis zur Markierung aufgefüllt. Die Aufarbeitung der Kalibrierlösungen erfolgt analog zu den Urinproben gemäß [Abschnitt 5](#) und [6](#).

Tab.4 Pipettierschema zur Herstellung der Kalibrierstandards für die Bestimmung von Selen (gesamt) in Urin

| Kalibrierstandard | Dotierlösung I [µl] | Dotierlösung II [µl] | Poolurin [ml] | Analytkonzentration [µg/l] |
|-------------------|------------------------|-------------------------|------------------|-------------------------------|
| 0 | – | 0 | | 0 |
| 1 | – | 50 | | 0,5 |
| 2 | – | 100 | | 1 |
| 3 | – | 500 | | 5 |
| 4 | 25 | – | ad 10 | 25 |
| 5 | 50 | – | | 50 |
| 6 | 100 | – | | 100 |
| 7 | 250 | – | | 250 |
| 8 | 350 | – | | 350 |

5 Probenahme und Probenaufbereitung

5.1 Probenahme

Die Urinproben werden in verschließbaren Urinbechern gesammelt. Urinproben beruflich exponierter Arbeiter werden am Schichtende, bei Langzeitexposition nach mehreren vorangegangenen Schichten, genommen. Falls die Proben nicht direkt vermessen werden, werden sie auf Urin-Monovetten[®] gezogen und bis zur Aufarbeitung bei –18 °C im Gefrierschrank gelagert.

5.2 Probenaufbereitung

Die Urinproben werden auf Raumtemperatur gebracht und auf dem Vortex-Mischer durchmischt. 5 ml der Urinprobe werden in ein 100-ml-Aufschlussgefäß überführt. Anschließend werden 1,5 ml hochreines Wasser, 1,0 ml 65%ige Salpetersäure, 0,5 ml 30%ige Salzsäure, 2,0 ml 30%iges Wasserstoffperoxid und 0,5 ml der ISTD-Dotierlösung hinzupipettiert. Das Aufschlussgefäß wird verschlossen und der Ansatz auf dem Vortex-Mischer gemischt. Im Anschluss wird der Ansatz für eine halbe Stunde bei 1400 W im Mikrowellenaufschlussystem mineralisiert. Nach dem Aufschluss lässt man den Ansatz auf Raumtemperatur abkühlen und überführt ihn in ein 50-ml-Polypropylenröhrchen. Der Ansatz wird mit hochreinem Wasser auf 20 ml aufgefüllt und erneut auf dem Vortex-Mischer für 15 Sekunden gemischt. Von der so verdünnten Aufschlusslösung werden 3 ml in ein 13-ml-Polypropylenröhrchen überführt und nach [Abschnitt 6](#) analysiert.

6 Instrumentelle Arbeitsbedingungen

Die analytische Bestimmung erfolgt mittels ICP-MS.

ICP-MS-Parameter

| | |
|-----------------------------|--------------|
| Zerstäuber: | MikroMist |
| Sprühkammer: | Scott, Quarz |
| Temperatur der Sprühkammer: | 10 °C |
| Rf Power: | 1500 W |

| | |
|--------------------------------------|--|
| Sampler-/Skimmer-Cone: | Nickel |
| Trägergas: | 0,9 l Argon/min |
| Makeup-Gas: | 0,2 l Argon/min |
| Reaktionsgas: | 3,5 ml Wasserstoff/min |
| Anzahl der Messungen pro Massenspur: | 3 |
| Messmodus: | <i>Time-resolved analysis</i> |
| Ausgewählte Isotope: | ⁷⁸ Se (Analyt); ⁷² Ge (ISTD) |
| Messzeit pro Massenspur: | ⁷⁸ Se: 1,0 s; ⁷² Ge: 0,5 s |

Die gerätespezifischen Parameter müssen vom Anwender individuell für das eingesetzte ICP-MS-System ermittelt und eingestellt werden. Die in diesem Abschnitt genannten Parameter sind für die im Rahmen der Methodenentwicklung verwendete Gerätekonfiguration bestimmt und optimiert worden. Grundsätzlich sollte das ICP-MS-System entsprechend der Herstellerangaben die tägliche Optimierungsroutine durchlaufen und die Spezifikationswerte erreichen, die je nach Gerätehersteller unterschiedlich sind. Prinzipiell sind auch andere Zerstäuber zur Probenzuführung verwendbar.

7 Analytische Bestimmung

Die Bestimmung des Selengehaltes in den Urinproben erfolgt durch Messung der Signalintensität des Isotops ⁷⁸Se. Wegen möglicher Störungen durch Cluster gleichen Masse/Ladungsverhältnisses wird das Isotop ⁸⁰Se für die Quantifizierung des Selen im Rahmen dieser Methode nicht verwendet (siehe [Abschnitt 11.5](#)). Die Messungen für diese Methode erfolgen im Reaktionszellenbetrieb unter Verwendung von Wasserstoff als Reaktionsgas. Dadurch werden bei Verwendung des Isotops ⁷⁸Se Störungen durch polyatomare Interferenzen wie beispielsweise durch Ar⁴⁰Ar³⁸-Cluster vermieden.

Zusätzlich zu den realen Proben, den Kalibrierstandards und den Qualitätskontrollmaterialien wird bei jeder Analysenserie ein Reagenzienleerwert, bestehend aus hochreinem Wasser, mitanalysiert.

Das System sollte nach jeder Messung für 60 s mit verdünnter Salpetersäure (3 %) gespült werden, um Memory-Effekte zu vermeiden.

8 Kalibrierung

Die Kalibrierstandards (siehe [Abschnitt 4.5](#)) werden analog zu den Urinproben aufgearbeitet (siehe [Abschnitt 5.2](#)) und analysiert. Die Kalibriergerade wird erstellt, indem die Quotienten aus den Messsignalen des Analyten und des ISTD gegen die jeweilige Konzentration des Kalibrierstandards aufgetragen werden. Die Kalibriergerade für die Bestimmung von Selen ist unter den beschriebenen Analysebedingungen von 0,5–350 µg/l linear.

[Abbildung 1](#) zeigt beispielhaft eine Kalibriergerade für die Bestimmung von Selen in Urin.

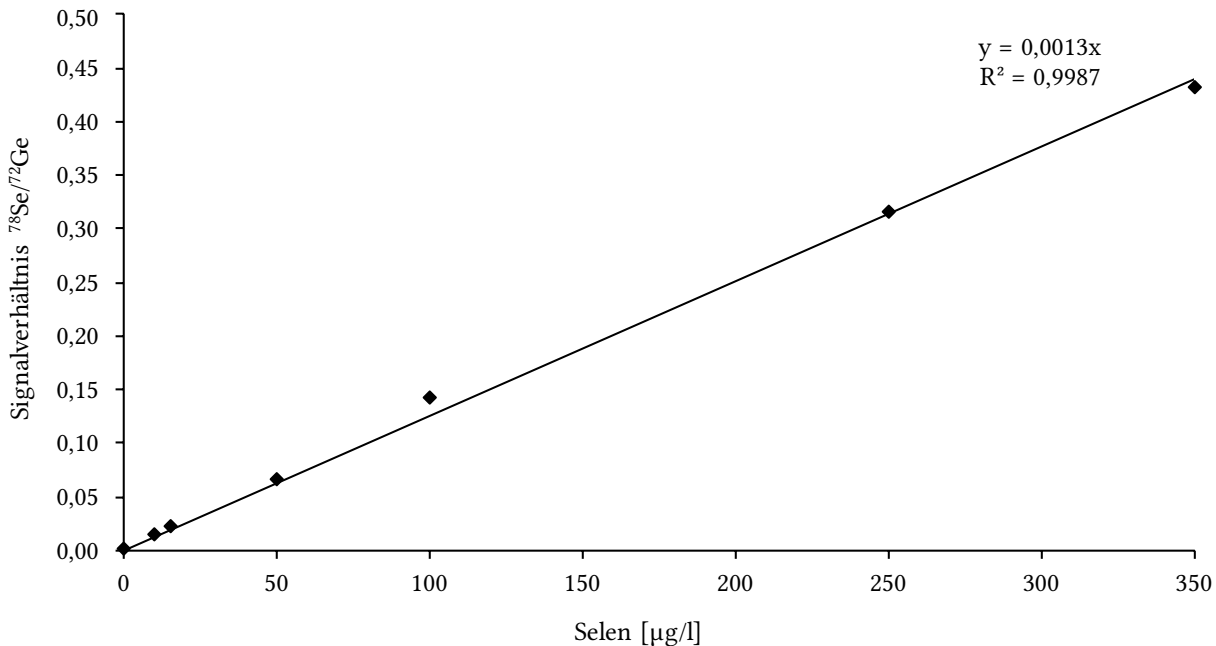


Abb. 1 Kalibriergerade für die Bestimmung von Selen (gesamt) in Urin

9 Berechnung der Analysenergebnisse

Der Analytgehalt einer Probe in $\mu\text{g}/\text{l}$ kann durch Einsetzen des Quotienten aus Analyt- und ISTD-Messsignal in die zur Analysenserie gehörende Kalibrierfunktion berechnet werden. Der Kalibrierbereich muss gegebenenfalls an die zu erwartenden Selenkonzentrationen angepasst werden. Liegt das Messergebnis oberhalb des Kalibrierbereiches, wird die entsprechende Probe mit hochreinem Wasser verdünnt, erneut aufgearbeitet und analysiert.

10 Standardisierung der Messergebnisse und Qualitätssicherung

Zur Sicherung der Qualität der Analysenergebnisse wird gemäß den Richtlinien der Bundesärztekammer und den Angaben in dem von der Kommission veröffentlichten allgemeinen Kapitel verfahren (Bader et al. 2010; Bundesärztekammer 2014).

Zur Qualitätssicherung werden in jeder Analysenserie zwei Qualitätskontrollproben mit unterschiedlichen Analytkonzentrationen parallel zu den Proben aufgearbeitet und analysiert. Dabei sollte die Selenkonzentration in den Kontrollmaterialien so gewählt werden, dass eine korrekte Messung über den gesamten Arbeitsbereich gewährleistet wird. Der Sollwert und der Toleranzbereich (Mittelwert \pm drei Standardabweichungen) der Qualitätskontrollmaterialien werden in einer Vorperiode durch Messung der Kontrollmaterialien an zehn verschiedenen Messtagen ermittelt (Bader et al. 2010).

11 Beurteilung des Verfahrens

Die Zuverlässigkeit des Verfahrens wurde durch eine umfassende Validierung sowie durch Nachstellung und Prüfung der Methode in einem zweiten, unabhängigen Labor bestätigt.

11.1 Präzision

Für die Bestimmung der Präzisionsdaten wurde G-EQUAS-Ringversuchsmaterial (48/2A bzw. 48/2B) für den umweltmedizinischen sowie für den arbeitsmedizinischen Bereich verwendet.

Präzision in der Serie

Für die Bestimmung der Präzision in der Serie wurden die Materialien des G-EQUAS-Ringversuchs 48/2 jeweils achtmal an einem Tag aufgearbeitet und anschließend analysiert. Die Daten zur Präzision in der Serie sind in [Tabelle 5](#) dargestellt.

Tab. 5 Präzision in der Serie für die Bestimmung von Selen (gesamt) in Urin (n=8)

| Material | Sollkonzentration [µg/l] | Standardabweichung (rel.) s_w [%] | Streubereich u [%] |
|---------------|-----------------------------|--|-------------------------|
| G-EQUAS 48/2A | 41,9 | 2,2 | 5,2 |
| G-EQUAS 48/2B | 327 | 1,0 | 2,4 |

Präzision von Tag zu Tag

Für die Bestimmung der Präzision von Tag zu Tag wurden die Ringversuchsmaterialien an sechs verschiedenen Tagen aufgearbeitet und anschließend analysiert. Die Daten zur Präzision von Tag zu Tag sind in [Tabelle 6](#) dargestellt.

Tab. 6 Präzision von Tag zu Tag für die Bestimmung von Selen (gesamt) in Urin (n=6)

| Material | Sollkonzentration [µg/l] | Standardabweichung (rel.) s_w [%] | Streubereich u [%] |
|---------------|-----------------------------|--|-------------------------|
| G-EQUAS 48/2A | 41,9 | 5,8 | 14,9 |
| G-EQUAS 48/2B | 327 | 5,3 | 13,4 |

11.2 Richtigkeit

Die Richtigkeit des Verfahrens wurde bestimmt, indem die G-EQUAS-Ringversuchsmaterialien 48/2 sowie die NIST-Referenzmaterialien SRM 2670a jeweils in einer Dreifachbestimmung vermessen wurden. Es ergaben sich die in [Tabelle 7](#) zusammengestellten relativen Wiederfindungsraten.

Tab. 7 Relative Wiederfindungsraten für die Bestimmung von Selen (gesamt) in Urin (n=3)

| Material | Dotierte Konzentration [µg/l] | Gemessene Konzentration (Mittelwert ± SD) [µg/l] | Relative Wiederfindungsrate r [%] | |
|---------------------|----------------------------------|---|-------------------------------------|------------|
| | | | Mittelwert | Bereich |
| G-EQUAS 48/2A | 41,9 | 42,4 ± 3,4 | 101 | 92,4–108,1 |
| G-EQUAS 48/2B | 327 | 332 ± 25,1 | 102 | 93,2–108,2 |
| NIST SRM 2670a Low | 8 | 7,3 ± 0,5 | 91 | 83,8–95,0 |
| NIST SRM 2670a High | 230 | 198 ± 12,8 | 86 | 79,6–89,7 |

11.3 Matrixeffekte

Zur Überprüfung von Matrixeffekten wurden zehn Individualurine, die Kreatininkonzentrationen im Bereich von 0,3–2,5 g/l aufwiesen, mit 20 µg Se pro Liter Urin dotiert und analysiert. Jede Probe wurde sowohl mit als auch ohne Dotierung aufgearbeitet und analysiert. Die in den undotierten Proben gemessenen Selenkonzentrationen wurden von den in den dotierten Urinen ermittelten Gehalten abgezogen. Die mittlere relative Wiederfindungsrate in

den Individualurinen lag bei $98,7 \pm 7,6\%$. Die Bestimmung des Selen in Urin wird durch die Zusammensetzung der Urinmatrix nicht beeinflusst.

11.4 Nachweis- und Bestimmungsgrenze

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze wurde nach DIN 32645 bestimmt (DIN 2008). Dazu wurde eine äquidistante 10-Punkt-Kalibrierung in einem Konzentrationsbereich von 0,2–2,0 µg Se/l in gepooltem Urin angesetzt. Diese Proben wurden zusammen mit einem undotierten Poolurin als Leerwert aufgearbeitet und vermessen. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenze wurde nach DIN 32645 aus der Standardabweichung der erhaltenen Kalibrierfunktion berechnet. Die so ermittelte Nachweis- und Bestimmungsgrenze ist [Tabelle 8](#) zu entnehmen.

Tab. 8 Nachweis- und Bestimmungsgrenze für die Bestimmung von Selen (gesamt) in Urin

| Analyt | Nachweisgrenze [µg/l] | Bestimmungsgrenze [µg/l] |
|--------|--------------------------|-----------------------------|
| Selen | 0,2 | 0,5 |

11.5 Störeinflüsse

Die hier beschriebene Bestimmung des Selen mittels ICP-MS kann durch Cluster, die das gleiche Masse/Ladungs-Verhältnis wie das zur Quantifizierung herangezogene Selenisotop aufweisen, gestört werden. So bietet sich die Verwendung des Isotops ^{80}Se zwar aufgrund seiner Isotopenhäufigkeit an, aufgrund von Interferenzen mit den $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ - und $^{79}\text{Br}^1\text{H}$ -Clustern, die auch ein Masse/Ladungs-Verhältnis von 80 aufweisen, wurde es für die Quantifizierung des Selen im Rahmen dieser Methode nicht verwendet. Durch die Verwendung von Wasserstoff als Reaktionsgas werden bei Auswahl des Isotops ^{78}Se polyatomare Interferenzen durch z. B. $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}$ -Cluster minimiert.

Ein Reagenzienleerwert wurde unter den beschriebenen Bedingungen nicht beobachtet. Sollte in den zu messenden Realproben Germanium vorliegen, muss auf einen alternativen internen Standard, wie Rhodium (^{103}Rh), ausgewichen werden.

12 Diskussion der Methode

Das hier beschriebene Verfahren basiert auf einer publizierten Methode zur Bestimmung von Selen (gesamt) in Urin mittels ICP-MS (Jäger et al. 2013; Jäger 2014). Sie zeichnet sich durch eine hohe Präzision und große Robustheit aus. Dabei erlaubt die ICP-MS als ausgesprochen sensitive elementspezifische Detektionsmethode die nachweisstarke Erfassung des zu analysierenden Selen. So ermöglicht die Bestimmungsgrenze von 0,5 µg Se/l auch die Erfassung der Hintergrundgehalte im Urin der beruflich nicht belasteten Allgemeinbevölkerung.

Nach durchgeführter Probenaufbereitung analysiert das ICP-MS-System in Kombination mit einem Autosampler die Proben automatisch. Die Methode eignet sich dadurch für die Anwendung in Routinelaboratorien. Der Aufschluss mit Mikrowellenaufschlusssystem ist allerdings zeitaufwendig, da die Aufschlusslösungen zusätzlich zum 30-minütigen Aufschluss Zeit zum Abkühlen benötigen und die Aufschlussgefäße gespült werden müssen. Zudem sind die Reaktionsplätze in dem bei der Methodenentwicklung verwendeten Mikrowellenaufschlussgerät begrenzt. Das verwendete Multiwave 3000 verfügt über einen Rotor, in dem maximal acht Aufschlussgefäße parallel erhitzt werden können. Bei hohem Probendurchsatz empfehlen sich daher Mikrowellenaufschlusssysteme mit einer größeren Zahl an Plätzen.

Alternativ bietet sich der thermische Aufschluss im Heizblock (z. B. ANALAB® HotPlate, ANALAB, Paris, Frankreich oder DigiPREP, SCP SCIENCE, Bernd Kraft GmbH, Duisburg), unter Verwendung von 5 ml Urin, 1,5 ml hochreinem Wasser, 1,0 ml 65%iger Salpetersäure, 3,0 ml 30%igem Wasserstoffperoxid sowie 0,5 ml der ISTD-Dotierlösung, an. Beim thermischen Aufschluss kann eine größere Probenanzahl parallel aufgearbeitet werden, beispielsweise 48 Proben

im ANALAB® HotPlate-Heizblock. Zudem sind die beim thermischen Aufschluss als Aufschlussgefäße verwendeten 50-ml-Polypropylenröhrchen Einwegprodukte, so dass das Spülen der Aufschlussgefäße zwischen den Aufschlüssen entfällt. Durch Aufschluss im Heizblock reduziert sich die Gesamtdauer der Selenbestimmung drastisch und ist dem hier beschriebenen mikrowellenunterstützten Druckaufschluss für den Routinebetrieb gegebenenfalls vorzuziehen.

Der Mineralisierungsschritt überführt alle im Urin vorliegenden Selenpezies in anorganisches Selen, nach Wang et al. (2001) in Selenit. Die vollständige Mineralisierung des organischen Materials eliminiert Einflüsse der Matrix auf das Analyseergebnis und ermöglicht es, neben den anorganischen auch die organischen Selenverbindungen korrekt zu erfassen. Dies ist vor allem in Hinblick auf Dimethylselenid und Dimethyldiselenid wichtig, sofern diese Selenpezies in den zu untersuchenden Urinen vorliegen.

Aufgrund der Flüchtigkeit dieser beiden methylierten Selenpezies werden diese durch die Vernebelung in der Sprühkammer verstärkt in das Plasma überführt und erzeugen dadurch deutlich erhöhte Signale im Vergleich zu nicht flüchtigen Verbindungen, wie beispielsweise Selenit. Dieser von Juresa et al. (2006) erstmals beschriebene Effekt konnte von den Entwicklern dieser Methode bestätigt werden. So lagen die Gesamtselenkonzentrationen nach Aufarbeitung von 44 Urinproben aus der Allgemeinbevölkerung ohne Aufschluss, nach alleiniger Verdünnung mit saurem Medium, um 35% höher als nach mikrowellenunterstütztem Druckaufschluss, wie er in dieser Methode beschrieben ist (Abbildung 2).

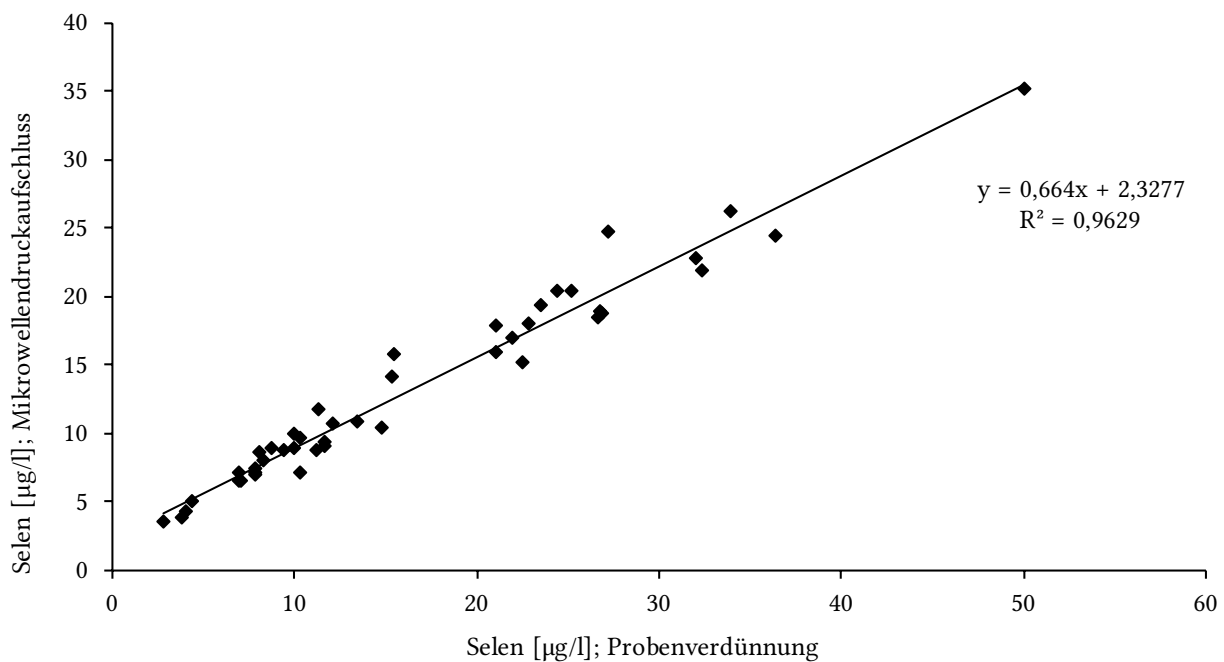


Abb. 2 Selenkonzentrationen nach Aufarbeitung von Urinproben mit mikrowellenunterstütztem Druckaufschluss bzw. durch alleinige Verdünnung mit saurem Medium (n=44)

Auch vom Prüfer der Methode wurden Urinproben der Allgemeinbevölkerung (n=38) sowohl mit mikrowellenunterstütztem Druckaufschluss als auch nach Verdünnung der Proben mit saurem Medium analysiert. Dazu wurden jeweils 500 µl der Proben 1:10 (V/V) mit einer Lösung, die 1% HNO₃, 1 µg Rhodium/l als internem Standard und 1% Ethanol enthielt, verdünnt (Heitland und Köster 2021). Die Zugabe des Ethanols dient der Matrixanpassung sowie der Minimierung von Kohlenstoffinterferenzen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Methodenentwickler ergaben sich nach Aufschluss bzw. Verdünnung gut übereinstimmende Gesamtselengehalte.

Es ist vorstellbar, dass die Zeitspanne zwischen Probenahme und Aufarbeitung sowie die Probenlagerung einen Einfluss auf den Gehalt an flüchtigen Selenverbindungen haben und die unterschiedlichen Ergebnisse in den Laboratorien auf

diese Faktoren zurückzuführen sind. Auch hängen Art und Anteil der organischen Selenspezies im Urin von den aufgenommenen Selenspezies sowie vom Aufnahmepfad und dem individuellen Metabolismus ab.

Der Prüfer der Methode hat, außer mit Wasserstoff als Reaktionsgas (ICP-MS; ^{78}Se), auch mit Sauerstoff als Reaktionsgas (ICP-MS/MS; $^{78}\text{Se} \rightarrow ^{94}\text{SeO}$) gearbeitet und vergleichbare Selengehalte in den Urinproben ($n = 26$) gemessen (Abbildung 3). Die gute Übereinstimmung der Konzentrationen zeigt, dass sowohl mit Wasserstoff als Reaktionsgas in der ICP-MS als auch mit Sauerstoff als Reaktionsgas in der ICP-MS/MS gearbeitet werden kann, um spektrale Interferenzen bei der Bestimmung des Selen effizient zu beseitigen.

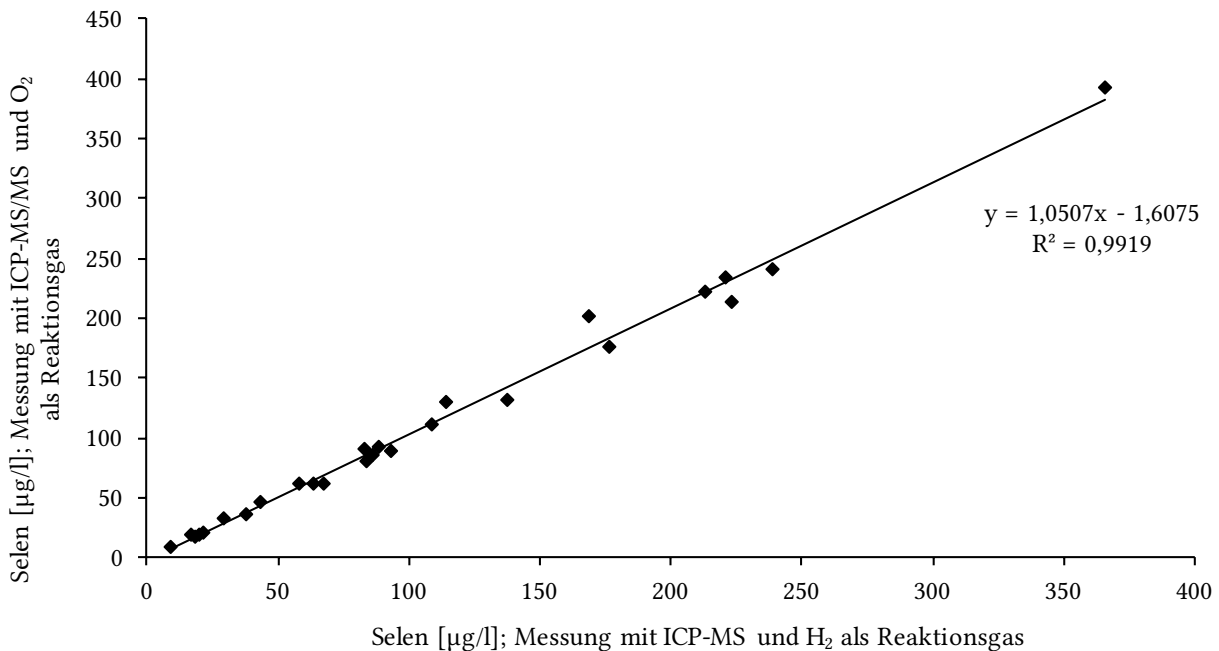


Abb. 3 Selenkonzentrationen nach Aufarbeitung von Urinproben mit mikrowellenunterstütztem Druckaufschluss und Verwendung von Wasserstoff (ICP-MS; ^{78}Se) bzw. Sauerstoff (ICP-MS/MS; $^{78}\text{Se} \rightarrow ^{94}\text{SeO}$) als Reaktionsgas ($n = 26$)

Die Verdünnung der Urinproben stellt gegebenenfalls auch eine Möglichkeit dar, wenn im Routinebetrieb Proben volumina kleiner 5 ml vorliegen. In diesem Fall können die Proben zur Matrixanpassung sowie zur Minimierung von Interferenzen wie oben beschrieben in 1% Ethanol verdünnt und analysiert werden. Bei der externen Methodenprüfung konnte gezeigt werden, dass die Selenkonzentration im Urin auch nach Verdünnung kleiner Urinvolumina (z. B. 500 μl) korrekt bestimmt werden kann.

Für die Selenbestimmung im Urin kann eine Teilnahme am „German External Quality Assessment Scheme“ (G-EQUAS; <https://app.g-equas.de/web/>), einem von der Deutschen Gesellschaft für Arbeits- und Umweltmedizin angebotenen Ringversuchsprogramm, der externen Qualitätssicherung dienen.

Verwendete Messgeräte Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma und Oktopol-Reaktionszelle (Agilent 7500cx, Agilent Technologies Germany GmbH & Co. KG, Waldbronn); ICP-MS-Autosampler (Agilent ASX-500 Series ICP-MS Autosampler, Agilent Technologies Germany & Co. KG, Waldbronn); Mikrowellenaufschlusssystem (Multiwave 3000 mit 8SXF100-Rotor, Anton Paar Germany GmbH, Ostfildern-Scharnhausen)

Anmerkungen

Interessenkonflikte

Die in der Kommission etablierten Regelungen und Maßnahmen zur Vermeidung von Interessenkonflikten (www.dfg.de/mak/interessenkonflikte) stellen sicher, dass die Inhalte und Schlussfolgerungen der Publikation ausschließlich wissenschaftliche Aspekte berücksichtigen.

Literatur

- Austrian Federal Ministry of Finance (2022) World mining data 2022. Iron and ferro-alloy metals, non-ferrous metals, precious metals, industrial minerals, mineral fuels. Band 37. Vienna: Austrian Federal Ministry of Finance. <https://www.world-mining-data.info/wmd/downloads/PDF/WMD2022.pdf>, abgerufen am 07 Dez 2022
- Bader M, Barr D, Göen T, Schaller KH, Scherer G, Angerer J (2010) Allgemeine Vorbemerkungen. Zuverlässigkeitskriterien einer analytischen Methode. In: Angerer J, Hartwig A, Hrsg. Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Band 2: Analysen in biologischem Material. 19. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. S. 284–336. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.bireliabd0019>
- Bundesärztekammer (2014) Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. Dtsch Arztebl 111(38): A1583–A1618
- Combs GF (2001) Selenium in global food systems. Br J Nutr 85(5): 517–547. <https://doi.org/10.1079/bjn2000280>
- D-A-CH (Deutsche Gesellschaft für Ernährung; Österreichische Gesellschaft für Ernährung; Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung; Schweizerische Vereinigung für Ernährung), Hrsg (2016) Selen. In: Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 2. Aufl. Frankfurt am Main: Umschau Braus GmbH Verlagsgesellschaft
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), Hrsg (2022) MAK- und BAT-Werte-Liste 2022. Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen und Biologische Arbeitsstofftoleranzwerte. Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Mitteilung 58. Düsseldorf: German Medical Science. https://doi.org/10.34865/mbwl_2022_deu
- DIN (Deutsches Institut für Normung), Hrsg (2008) DIN 32645:2008-11. Chemische Analytik – Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen – Begriffe, Verfahren, Auswertung. Berlin: Beuth. <https://doi.org/10.31030/1465413>
- Glover JR (1967) Selenium in human urine: a tentative maximum allowable concentration for industrial and rural populations. Ann Occup Hyg 10(1): 3–14. <https://doi.org/10.1093/annhyg/10.1.3>
- Göen T, Greiner A (2018) Human biomonitoring of selenium exposure. In: Michalke B, Hrsg. Selenium. Molecular and integrative toxicology. Cham: Springer International Publishing. S. 467–494. https://doi.org/10.1007/978-3-319-95390-8_24
- Göen T, Schaller B, Jäger T, Bräu-Dümler C, Schaller KH, Drexler H (2015) Biological monitoring of exposure and effects in workers employed in a selenium-processing plant. Int Arch Occup Environ Health 88(5): 623–630. <https://doi.org/10.1007/s00420-014-0989-7>
- Greiner A, Hildebrand J, Feltes R, Uter W, Drexler H, Göen T (2020) Evaluation of urinary selenium as a biomarker of human occupational exposure to elemental and inorganic selenium. Int Arch Occup Environ Health 93(3): 325–335. <https://doi.org/10.1007/s00420-019-01489-2>
- Greiner A, Drexler H, Hartwig A, MAK Commission (2021) Selen und seine anorganischen Verbindungen – Addendum zur Ableitung von BAR. Beurteilungswerte in biologischem Material. MAK Collect Occup Health Saf 6(3): Doc064. https://doi.org/10.34865/bb778249d6_3ad
- Hartwig A, Hrsg (2011) Selen und seine anorganischen Verbindungen. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 51. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb778249verd0051>
- Hartwig A, Hrsg (2014) Selen und seine anorganischen Verbindungen. In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. 56. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb778249verd0056>
- Health Canada (2013) Second report on human biomonitoring of environmental chemicals in Canada. Results of the Canadian Health Measures Survey Cycle 2 (2009–2011). Ottawa: Canadian Ministry of Health. https://www.canada.ca/content/dam/hc-sc/migration/hc-sc/ewh-sent/alt_formats/pdf/pubs/contaminants/chms-ecms-cycle2/chms-ecms-cycle2-eng.pdf, abgerufen am 01 Dez 2022
- Heitland P, Köster HD (2006) Biomonitoring of 30 trace elements in urine of children and adults by ICP-MS. Clin Chim Acta 365(1–2): 310–318. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.09.013>
- Heitland P, Köster HD (2021) Human biomonitoring of 73 elements in blood, serum, erythrocytes and urine. J Trace Elem Med Biol 64: 126706. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126706>

- Hildebrand J, Jäger T, Göen T, Michalke B, Göen T, Hartwig A, MAK Commission (2022 a) Selen und seine Verbindungen – Bestimmung von Selenozucker 1, Selenozucker 2, Selenomethionin, Selenoethionin, methylseleniger Säure, Se-Methylselenocystein und Se-Methylselenoglutathion in Urin mittels Umkehrphasen-Chromatographie-ICP-MS. Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf 7(2): Doc039. https://doi.org/10.34865/bi778249bd7_2or
- Hildebrand J, Jäger T, Göen T, Michalke B, Hartwig A, MAK Commission (2022 b) Selen und seine Verbindungen – Bestimmung von Selenozucker 3 und Trimethylselenonium in Urin mittels Kationenaustausch-Chromatographie-ICP-MS. Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf 7(3): Doc067. https://doi.org/10.34865/bi778249cd7_3or
- Hoet P, Jacquerye C, Deumer G, Lison D, Haufroid V (2013) Reference values and upper reference limits for 26 trace elements in the urine of adults living in Belgium. Clin Chem Lab Med 51(4): 839–849. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0688>
- Horng CJ, Tsai JL, Lin SR (1999) Determination of urinary arsenic, mercury, and selenium in steel production workers. Biol Trace Elem Res 70(1): 29–40. <https://doi.org/10.1007/bf02783847>
- Jäger T (2014) Entwicklung und Anwendung von Methoden zur Bestimmung von Selen-Spezies in human-biologischem Material. Dissertation. Erlangen: Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. <https://opus4.kobv.de/opus4-fau/frontdoor/deliver/index/docId/5052/file/Thomas%20Dissertation.pdf>, abgerufen am 05 Apr 2022
- Jäger T, Drexler H, Göen T (2013) Ion pairing and ion exchange chromatography coupled to ICP-MS to determine selenium species in human urine. J Anal At Spectrom 28(9): 1402–1409. <https://doi.org/10.1039/c3ja50083g>
- Jäger T, Göen T, Michalke B, Göen T, Hartwig A, MAK Commission (2022) Selen und seine Verbindungen – Bestimmung von Selenit und Selenat in Urin mittels Anionenaustausch-Chromatographie-ICP-MS. Biomonitoring-Methode. MAK Collect Occup Health Saf 7(2): Doc038. https://doi.org/10.34865/bi778249ad7_2or
- Juresa D, Kuehnelt D, Francesconi KA (2006) Consequences of vapor enhancement on selenium speciation analysis by HPLC/ICPMS. Anal Chem 78(24): 8569–8574. <https://doi.org/10.1021/ac061496r>
- Langner BE (2000) Selenium and selenium compounds. In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Band 32. Weinheim: Wiley-VCH. S. 343–355. https://doi.org/10.1002/14356007.a23_525
- Lu J, Holmgren A (2009) Selenoproteins. J Biol Chem 284(2): 723–727. <https://doi.org/10.1074/jbc.r800045200>
- Morton J, Tan E, Leese E, Cocker J (2014) Determination of 61 elements in urine samples collected from a non-occupationally exposed UK adult population. Toxicol Lett 231(2): 179–193. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.08.019>
- Nuttall KL (2006) Evaluating selenium poisoning. Ann Clin Lab Sci 36(4): 409–420
- Oster O, Prellwitz W (1990) The renal excretion of selenium. Biol Trace Elem Res 24(2–3): 119–146. <https://doi.org/10.1007/bf02917201>
- Rajotte BJP, P'an AYS, Malick A, Robin J-P (1996) Evaluation of selenium exposure in copper refinery workers. J Toxicol Environ Health 48(3): 239–251. <https://doi.org/10.1080/009841096161311>
- Rayman MP (2000) The importance of selenium to human health. Lancet 356(9225): 233–241. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(00\)02490-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(00)02490-9)
- Rayman MP (2012) Selenium and human health. Lancet 379(9822): 1256–1268. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(11\)61452-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(11)61452-9)
- Rettenmeier AW (2011) Selen und seine anorganischen Verbindungen. In: Drexler H, Hartwig A, Hrsg. Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte), Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA), Biologische Leitwerte (BLW) und Biologische Arbeitsstoff-Referenzwerte (BAR). 18. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH. Auch erhältlich unter <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb778249verd0018>
- RKI (Robert Koch-Institut) (2006) Selen in der Umweltmedizin: Mitteilung der Kommission „Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin“. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 49(1): 88–101. <https://doi.org/10.1007/s00103-005-1185-4>
- RÖMPP-Redaktion, Hartwig A (2006) Selen. <https://roempp.thieme.de/lexicon/RD-19-01826>, abgerufen am 06 Dez 2022
- SCF (Scientific Committee on Food), NDA (Scientific Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies) (2006) Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. Parma: European Food Safety Authority. https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/efsa_rep/blobserver_assets/ndatolerableuil.pdf, abgerufen am 28 Jan 2022
- Schierling P, Oefele C, Schaller K-H (1982) Determination of arsenic and selenium in urine samples with the hydride AAS technique. Aerztl Lab 28: 21–27
- Snoj Tratnik J, Falnoga I, Mazej D, Kocman D, Fajon V, Jagodic M, Stajnik A, Trdin A, Šlejkovec Z, Jeran Z, Osredkar J, Sešek-Briški A, Kršnik M, Kobal AB, Kononenko L, Horvat M (2019) Results of the first national human biomonitoring in Slovenia: Trace elements in men and lactating women, predictors of exposure and reference values. Int J Hyg Environ Health 222(3): 563–582. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.02.008>
- Wang Z, Gao Y-X, Belzile N (2001) Microwave digestion of environmental and natural waters for selenium speciation. Anal Chem 73(19): 4711–4716. <https://doi.org/10.1021/ac010330h>
- WHO (World Health Organization) (1987) Selenium. Environmental health criteria, No. 58. Geneva: WHO. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37268/9241542586-eng.pdf>, abgerufen am 21 Feb 2022