

УДК 663.97:546:3:54.062

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ВОЛОСАХ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДАМИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ИМПУЛЬСНОЙ ПОЛЯРОГРАФИИ И РЕНТГЕНОВСКОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Джапаридзе Дж.И.¹, Шавгулидзе Н.В.¹, Хавтаси Н.С.¹, Енукидзе Л.Г.¹, Харисчаришвили И.З.², Кириленко Е.К.³, Гальченко С.Н.⁴

¹Институт неорганической химии и электрохимии им. Р. И. Агладзе, г.Тбилиси, Грузия,

²Центр медицинской элементологии «Биоэлемент», г.Тбилиси, Грузия,

³Научно-технический центр «Вириа», г.Киев, Украина,

⁴Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, г.Киев, Украина.

Статья посвящена актуальной проблеме сегодняшнего дня – микроэлементному анализу биосубстратов. Рассмотрено влияние токсических элементов на организм человека. Основное внимание уделено возможностям двух аналитических методов анализа биопроб: дифференциальной импульсной полярографии (ДИП) и рентгеновской флуоресценции (РФА). Представлены результаты применения методики одновременного определения ионов Рb(II), Zn(II) и Cu(II) в волосах человека методами ДИП и РФА, проведена их сравнительная оценка.

Ключевые слова: дифференциальная импульсная полярография, рентгеновская флуоресценция, биопроба, микроэлементный анализ

Введение

В последние годы анализ биологических объектов стал одной из основных областей применения инструментальных методов анализа, так как такие исследования актуальны при диагностике врожденных патологий, профессиональных заболеваний, связанных со спецификой промышленного производства, экологически обусловленных заболеваний и т. д.

Недостаток жизненно важных элементов в питьевой воде, промышленное загрязнение окружающей среды токсичными и радиоактивными элементами, неполноценное питание, болезни, некоторые лекарственные средства могут приводить к возникновению заболеваний, в основе которых лежит дефицит, избыток или дисбаланс микроэлементов в организме. Для оценки уровня содержания микроэлементов в организме человека, наряду с такими диагностическими биосубстратами как кровь, моча, ногти, хорошей информативностью обладают волосы. Для волос характерна фиксированная динамика роста (0,2–0,5 мм в день), в связи с чем наиболее адекватной для оценки микроэлементного статуса организма, на момент обследования, является прикорневая часть волос. Элементы, которые с кровью попадают в клетки во-

лос, в минеральный обмен организма включаются с существенным затруднением. В волосах происходит концентрирование микроэлементов, в отличие от крови, которая, в основном, выполняет в организме транспортную функцию [1,2]. Волосы наиболее полно отражают уровень содержания как токсичных (свинец, кадмий, мышьяк и т. д.), так и жизненно необходимых элементов (цинк, селен, железо и т. д.). Микроэлементный состав крови первым реагирует на повышение уровня содержания тяжелых металлов, но может не отражать истинный уровень их содержания в организме. Поэтому важно исследование таких биосубстратов, которые наиболее полно отражают элементный статус во всем организме. В этом отношении наиболее информативными являются волосы.

Исследование микроэлементов в волосах дает возможность выявить наличие патологических процессов на предклинической стадии, что позволяет внести соответствующую корректировку в профилактику заболевания. Все это имеет большое значение для превенции многочисленных заболеваний. Особую пользу анализ волос может принести при изучении влияния на организм человека некоторых микроэлементов и отдельных тяжелых металлов [3,4,5]. Данные анализа волос по-

казывают, что отравления тяжелыми металлами в настоящее время встречаются все чаще. Химический анализ волос, взятых у людей, живущих сегодня, и у людей, умерших несколько столетий назад, показывает, что содержание металлов в волосах выросло в 1000 раз, что конечно, связано с резким ухудшением экологической среды.

Тяжелые металлы вызывают различные заболевания. Например, медь относится к эссенциальным микроэлементам, то есть элементам, которые играют особо важную роль в процессах жизнедеятельности организма, при хронической интоксикации вызывает нарушения функции нервной системы, печени и почек. Цинк также относится к эссенциальным микроэлементам, однако высокий уровень цинка в организме человека, в первую очередь, отражается на уменьшении активности ряда ферментативных систем. Свинец — один из самых высокотоксичных микроэлементов. Его повышенное содержание в организме человека влияет на нервную систему (нейропатия), почки (нефропатия), сердечно-сосудистую систему.

Наиболее испытанными методами анализа волос являются атомно-абсорбционная спектроскопия, вольтамперометрия и рентгенофлуоресцентный метод [6].

Ранее были установлены оптимальные условия определения ионов $Pb(II)$, $Cd(II)$, $Zn(II)$, $Cu(II)$, Fe в крови и сыворотке крови человека методом дифференциальной импульсной полярографии (ДИП) [7].

В настоящей работе представлены результаты разработанной в Институте неорганической химии и электрохимии им. Р. И. Агладзе (Грузия) методики одновременного определения ионов $Pb(II)$, $Zn(II)$ и $Cu(II)$ в волосах человека методом ДИП. Проведено сравнение полученных результатов с результатами рентгенофлуоресцентного анализа.

Материалы и методы исследования

Измерения проводили на полярографе ПУ-1 в режиме ДИП с ртутным капельным электродом по трехэлектродной схеме в термостатированной ячейке. Концентрации элементов (медь, цинк, свинец, кадмий) в параллельных пробах волос измерялись на рентгенофлуоресцентном спектрометре СЭР-01 «Элвакс» («Методика проведения измерений массовой доли химических элементов в волосах человека рентгенофлуоресцентным методом», МВИ № 081/12-4502-00 от 21.07.00, аттестована

Украинским государственным НПЦ стандартизации, метрологии и сертификации УкрЦСМ).

Чувствительность метода ДИП находится в пределах $5 \cdot 10^{-8} - 10^{-3}$ моль/л, в связи с этим даже самые незначительные примеси в волосах могут исказить анализируемую картину. При проведении анализа волос необходимо избавиться от примесей, которые могут присутствовать вследствие выделения пота, обработки волос шампунем, бальзамом, краской для волос и т. д. [8]. На сегодняшний день предложено более 15 методов промывки подготовленных для анализа волос [9]. Перед проведением исследований волосы тщательно промывались ацетоном. Качество промывки подтверждалось отсутствием каких-либо дополнительных сигналов на фоновой вольтамперной кривой.

Предварительно были сняты полярографические кривые стандартных растворов на фоне 0,1М HCl , содержащие ионы меди, свинца и цинка в отдельности и при их совместном присутствии в растворе (рис. 1).

Анализ свинца (II), меди (II) и цинка (II) в волосах заключается в следующем. Отбирают пробу волос (примерно 1,0 г) с затылочной части головы. Их помещают в чашку Петри и промывают ацетоном для удаления примесей. Затем тщательно, дважды промывают дистиллированной водой и сушат на фильтровальной бумаге. Взвешивают 1,0 г сухих волос и помещают в небольшой кварцевый стакан. стакан помещают в му-

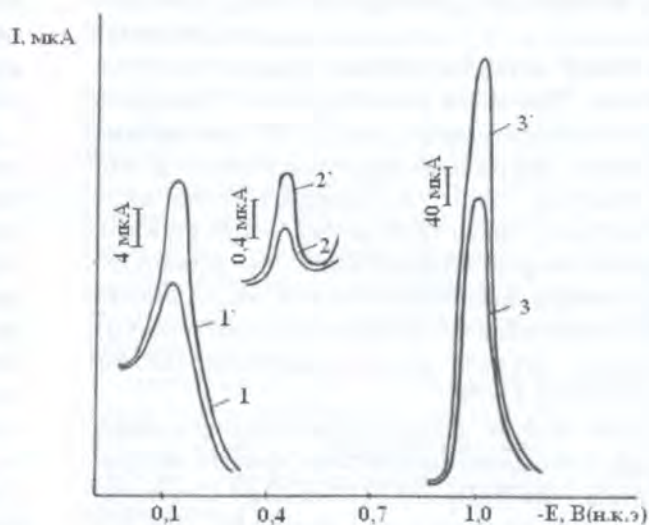


Рис. 1. Полярограммы $Cu(II)$, $Pb(II)$ и $Zn(II)$ в 1 г волос на фоне 0,1 моль/л HCl : 1- $Cu(II)$, 2- $Pb(II)$, 3- $Zn(II)$; 1', 2' 3'-соответствующие стандарты.

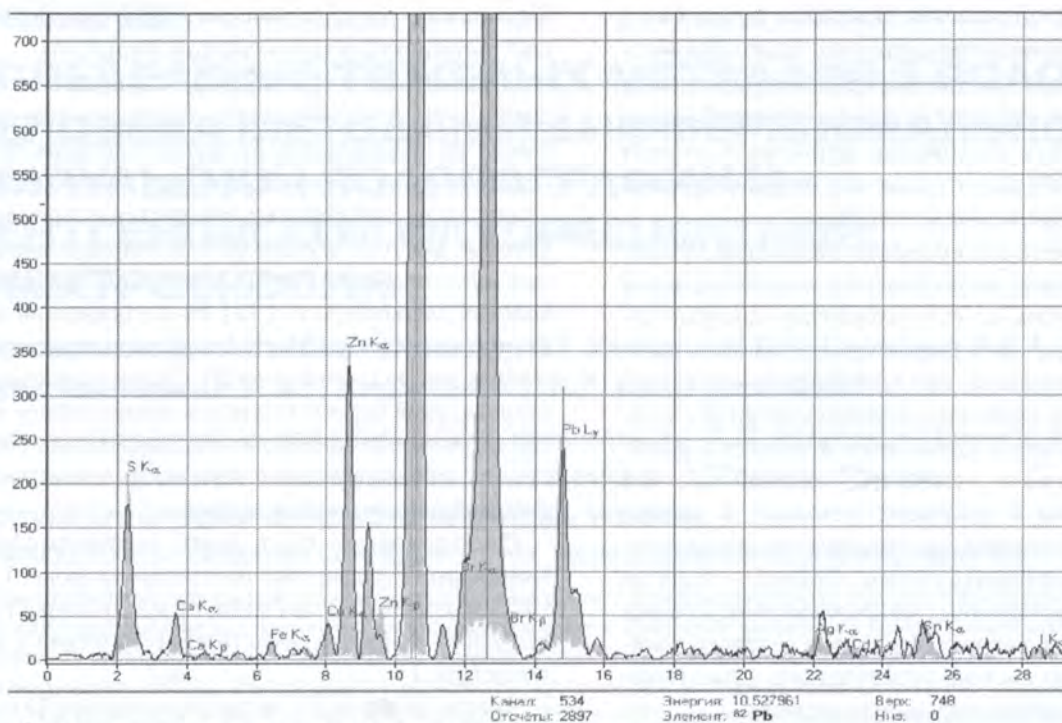


Рис. 2. Рентгено-флуоресцентный спектр пробы волос пациентки А.

фельную печь и подвергают термической обработке в течение 1 часа при температуре 400 °С. Полученный пепел растворяют сначала в 1 мл 1 моль/л HNO₃, а затем добавляют 1 мл 1 моль/л HCl. После этого раствор выпаривают, а осадок растворяют в 10 мл 0,1 моль/л HCl. Полученный раствор помещают в полярографическую ячейку и затем снимают полярографические кривые от 0 до -1,2 В. Количественное определение ионов металлов в пробе проводят методом добавок. Для этого в ячейку, после получения первой полярограммы, добавляют стандартные растворы, содержащие известное количество меди (2 мкг/мл – 8 мкг/мл), свинца (0,3 мкг/мл – 1,2 мкг/мл), цинка (0,05 мкг/мл – 0,2 мкг/мл) и снимают вторую полярограмму. Для установления степени воспроизводимости эксперимента опыты повторялись несколько раз в аналогичных условиях. Степень воспроизводимости опытов составила ± 1,5 %.

Таким образом, были построены полярограммы (дифференциально-импульсные кривые восстановления) для Pb(II), Zn(II) и Cu(II) в 1 г волос человека на фоне раствора 0,1 моль/л HCl. Все три микроэлемента дают четко выраженные пики при строго определенных значениях потенциалов, соответствующих потенциалам полуволн исследуемых микроэлементов (см. рис.1).

Представляет интерес сопоставление полученных нами данных по содержанию микроэлементов в волосах человека, с данными, полученными другим методом. На сегодняшний день, одним из передовых методов анализа биосубстратов, в том числе волос, является метод рентгеновской флуоресцентной спектроскопии. Этот метод, в отличие от физико-химических методов, обеспечивает экспресс-анализ по всем элементам одновременно, в одном измерении, и, в большинстве случаев, не требует специальной обработки пробы.

Для анализа волос методом рентгеновской флуоресцентной спектроскопии, необходимо срезанные с затылка волосы очистить от внешних загрязнителей. Очистка производится сначала в ацетоне, затем – в бидистиллированной воде. Затем 50 мг волос измельчают, к ним добавляют связующий органический компаунд без примесей металлов. Смесь высушивают, и из этой массы изготавливают таблетку диаметром 10 мм, толщиной не более 2 мм и массой 50 мг. Затем таблетку анализируют на приборе СЕР-01 на протяжении 10 мин. Спектр флуоресценции состоит из ряда аналитических линий. Каждой линии отвечает энергия флуоресцентного излучения, характерная для атомов данного элемента (рис. 2.).

Интенсивность спектральных линий зависит от концентрации элементов в пробе. Чувствитель-

Таблица 1

Сравнение результатов определения ионов Pb(II), Zn(II) и Cu(II) в волосах человека, полученных методами рентгеновской флуоресцентной спектроскопии и ДИП

Ионы	Метод рентгеновской флуоресцентной спектроскопии (мкг/г)		Метод ДИП (мкг/г)		Отклонение в %	
	I проба	II проба	I проба	II проба	I проба	II проба
Cu(II)	8,30	11,80	10,80	14,40	23,20	18,10
Pb(II)	0,47	1,40	0,74	1,89	36,50	25,90
Zn(II)	77,00	39,80	86,75	44,21	9,70	11,20

Таблица 2

Сравнение результатов соотношения ионов Pb(II), Zn(II) и Cu(II) в волосах человека, полученных методами рентгеновской флуоресцентной спектроскопии и ДИП

Соотношение ионов	Метод рентгеновской флуоресцентной спектроскопии		Метод ДИП		Отклонение в %	
	I проба	II проба	I проба	II проба	I проба	II проба
Cu/Pb	17,66	8,43	14,59	7,62	17,35	9,6
Zn/Cu	9,28	3,37	8,03	3,07	13,42	8,98
Zn/Pb	163,83	28,43	117,23	23,39	28,44	17,72

ность спектрометра для большинства элементов составляет 1 ppm (1 мкг/г). Повысить чувствительность можно различными методами концентрирования. Следует подчеркнуть, что для сравнения результатов одна и та же проба волос после проведения измерений на приборе СЭР-01 подготавливалась для снятия полярограмм методом ДИП.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты, полученные методами ДИП и рентгеновской флуоресцентной спектроскопии можно сравнить (табл. 1).

Среднее отклонение результатов анализа составляет 21 % и допустимо при сравнении различных систем измерения концентраций химических элементов. Например, для такого химического элемента, как железо, концентрация которого измерялась следующими методами АА, ICP, INAA, XRF, или же для титана - АА, СОL, ICP, XRF стандартное отклонение находится в диапазоне 20–30 % [10]. Возможная причина отклонения результатов измерений связана с проведением градуировочных работ с применением различных тестовых образцов. СЭР-01 градуировался по стандартным образцам растворов ионов металлов, которые изготавливаются Физико-химическим институтом им. А. В. Богатского НАН Украины в г. Одесса, и применяются для градуировки, аттестации и поверки анали-

тических приборов (фотоколориметры, спектрофотометры, атомно-абсорбционные спектрофотометры и др.). Учитывая, что использованные нами методики измеряют элементы (медь, свинец и цинк) одновременно, есть основания предполагать, что соотношение элементов должно быть более стабильным. Поэтому, в данном случае лучше сравнивать не абсолютные величины содержания элементов в волосах, а их соотношение, и тем самым исключить возможную причину расхождения результатов (табл. 2).

Тем более что и с медицинской точки зрения, ни один биохимический или физиологический процесс не связан с каким либо одним отдельно взятым элементом. Во взаимодействии микроэлементов в обмене веществ наблюдаются физиологический синергизм и антагонизм. Синергизм это, когда присутствие одного элемента, усиливает активность другого. Антагонизм наблюдается в том случае, когда действие одного элемента направлено против действия другого.

Одним словом, важен не только уровень содержания — недостаточное или избыточное поступление в организм определенных микроэлементов, но особенно значимым является соотношение микроэлементов [11].

Действительно, исключив погрешность, вносимую различными методами градуировки приборов, среднее отклонение уменьшилось до 16 % (см. табл. 2).

Выводи

1. Стандартне відхилення для абсолютних величин концентрацій цинка, міді та свинцю, отриманих за допомогою методик, представлених в даній роботі (методика одночасного визначення іонів Pb(II), Zn(II) та Cu(II) в волосі людини методом ДІП та методика виконання вимірювань масової частки хімічних елементів в волосі людини рентгенофлуоресцентним методом), становить 21 %.
2. Для співвідношення концентрацій цих елементів стандартне відхилення становить 16 %.

Література

1. Харисчарішвілі І. З., Горгошідзе Б. Е. Аналіз мікроелементного складу волосі рентгено-флуоресцентним методом та його значення в справі діагностики захворювань людини // *Експериментальна та клінічна медицина*. – 2006. – № 7(32). – С. 65–67.

2. Горгошідзе Б. Е., Харисчарішвілі І. З. Питання медичної елементології та значення визначення мікроелементів в біосубстратах для діагностики та профілактики захворювань репродуктивної системи // *Експериментальна та клінічна медицина*. – 2006. – № 6(31). – С. 60–63.

3. Салам Мухамед Ратеб, Петров С. І. Визначення мікропримісесей міді (II), свинцю (II) та кадмія (II) в їдких продуктах методом інверсійної вольтамперометрії // *Ж. аналіз. хімії*. – 1984. – Т. XXXIX, вип. 12. – С. 2172–2174.

4. Мікроелементи в харчуванні людини. Доклад комітету експертів ВОЗ. – М.: Медицина, 1975. – № 532. – 73с.

5. Трахтенберг І. М., Колесников В. С., Луковенко В. М. Тяжкі метали в зовнішньому середовищі. – Мінськ: «Навука і техніка», 1994. – 285 с.

3. Як показали дослідження, метод ДІП та метод рентгеновської флуоресценції можуть успішно застосовуватися для визначення важких металів в біопробах, зокрема, в волосі людини.

4. Показники динаміки співвідношень елементів, отримані методами ДІП та рентгеновської флуоресценції, можуть бути основою для створення нових способів донозологічної діагностики, що дозволяють забезпечити проведення моніторингу, направлено на зниження захворюваності та збереження здоров'я населення.

6. Осипова Е. А. Електроаналітичні методи та проблема охорони навколишнього середовища // *Соросівський Образовательний Журнал*. – 2001. – № 2. – С. 47–54.

7. Шавгулідзе Н. В., Габричідзе О. А., Енуکیدзе Л. Г., Лежава Н. Г., Герхард В., Джапарідзе Дж. І. Полярнографічне визначення іонів свинцю, цинку, міді та кадмія в крові та сироватці крові // *Georgian engineering news*. – 2004. – № 2. – С. 101–103.

8. Ryan D. F., Holzbecher I., Stuart D.C. Trace elements in scalp-hair of persons with multiple sclerosis and of normal individuals // *Clin. chem.* – 1978. – V. 24. – P. 1996–2000.

9. Assanlan G. S., Obenleas P – *Ibid.* – 1977. – V. 23. – P. 1771–1772.

10. Certificate of Certified Reference Materials. Issued in 2004, Approved by China National Analysis Center for Iron and Steel.

11. Федосєнко М. В., Шиляєв Р. Р., Громова О. А. та др. Значення та роль мікроелементів в фізіології та патології людини // *Учебное пособие для студентов медіцинських вузів*. ГОУ ВПО Івановська державна медіцинська академія Міністерства охорони здоров'я РФ – Іваново. – 2004 г. – С. 9–10.

Джапарідзе Дж.І.¹, Шавгулідзе Н.В.¹, Хавтасі Н.С.¹, Енуکیدзе Л.Г.¹,

Харисчарішвілі І.З.², Кириленко Є.К.³, Гальченко С.М.⁴

ВИЗНАЧЕННЯ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ У ВОЛОСІ ЛЮДИНИ МЕТОДАМИ ДИФЕРЕНЦІАЛЬНОЇ ІМПУЛЬСНОЇ ПОЛЯРОГРАФІЇ ТА РЕНТГЕНІВСЬКОЇ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ

¹Інститут неорганічної хімії та електрохімії ім. Р. І. Агладзе, м.Тбілісі, Грузія.

²Центр медичної елементології «Біоелемент», м.Тбілісі, Грузія.

³Науково-технічний центр «Віріа», м.Київ, Україна.

⁴Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, м.Київ, Україна

Стаття присвячена актуальній проблемі сьогодення – мікроелементному аналізу біосубстратів. Розглянуто вплив токсичних елементів на організм людини. Особлива увага звернена на можливості двох аналітичних методів аналізу біопроб: диференціальної імпульсної полярографії (ДІП) та рентгеновської флуоресценції (РФА). Представлено результати застосування методики одночасного визначення іонів Pb (II), Zn (II) та Cu (II) у волосі людини методами ДІП та РФА, проведено їх порівняльну оцінку.

Ключові слова: диференціально-імпульсна полярографія, рентгеновська флуоресценція, біопроба, мікроелементний аналіз

Djaparidze Dj.I.¹, Shavgulidze N.V.¹, Havtasi N.S.¹, Enukidze L.G.¹, Harischarishvili I.Z.²,
Kirilenko E.K.³, Galchenko S.N.⁴

DETERMINATION OF CONTENT OF HEAVY METALS IN HAIR WITH THE HELP OF METHODS OF DIFFERENTIAL PULSED POLAROGRAPHY AND X-RAY FLUORESCENT SPECTROSCOPY

¹Institute of inorganic chemistry and electrochemistry named by R. I. Agladze, Tbilisi, Georgia.

²Centre of medical elementology «Bioelement», Tbilisi, Georgia.

³Scientific and technical centre «Viria», Kiev, Ukraine.

⁴National Taras Shevchenko University of Kiev, Kiev, Ukraine

This article deals with a topical problem of microelement analysis of biological substratums. Influence of toxic elements on organism was examined. We mostly drew attention to the following two methods of analytical analysis of bioassays: differential pulsed polarography and X-ray fluorescence.

The results of simultaneous determination of ions of Pb (II), Zn (II) and Cu (II) in hair were presented with the help of DPP method and of RFA. The comparative estimation of results from DPP and X-ray fluorescence method was conducted.

Key words: differential pulsed polarography, X-ray fluorescence, bioassay, microelement analysis

Поступила : 06.03.2008

Контактное лицо: Кириленко Евгений Константинович, канд. физ.-мат. наук, НТЦ «Вириа»,
ул. Саксаганского, 44-В, Киев 01033, Украина, тел. раб. (044) 289–6150, тел. моб. +380636999494,
e-mail: info@viria.com.ua