

ПІДВИЩЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛІЗУ БІОПРОБ ЗА ДОПОМОГОЮ ТЕРМІЧНОГО ЕКСПРЕС-МЕТОДУ КОНЦЕНТРУВАННЯ

С. М. ГАЛЬЧЕНКО, П. А. КОРОТКОВ, Є. К. КИРИЛЕНКО¹

UDC № УДК 535.37
© 2009

Київський Національний університет імені Тараса Шевченка
(Просп. Акад. Глушкова, 2, Київ 03127, Україна; e-mail: Sveta.Galchenko@gmail.com)

¹Науково-технічний центр "Vіria"
(вул. Саксаганського, 44-В, Київ 01033, Україна)

Представлено результати практичного використання методики підвищення чутливості у кількісному рентгенофлуоресцентному аналізі. Методика базується на попередньому концентруванні елементів за допомогою швидкого термічного озолення. Проаналізовано характеристичні спектри волосся та їх попелу. Розраховано коефіцієнти підвищення чутливості для важких металів та ряду інших хімічних елементів.

(у тому ж числі і важкі метали) представлена у дуже малих концентраціях (менше 1-го атома на мільйон сусідів, що складають основу матриці біопроби) [24, 25]. Ці концентрації знаходяться нижче порогу чутливості рентгенофлуоресцентного аналізу при вимірюванні біопроб у вигляді їх природного агрегатного стану. Для підвищення чутливості використовують різні методики, які поєднують у собі сучасні математичні методи обробки спектрів [26] та попереднє концентрування елементів у зразку.

1. Вступ

У наш час визначення реального вмісту мікроелементів у крові, сечі та волоссі є темою великої кількості наукових досліджень [1-5]. Серед існуючих методів визначення мікроелементного складу біопроб [6-15] рентгенофлуоресцентний метод займає особливе місце [15-20].

До переваг рентгенофлуоресцентного аналізу треба віднести: неструктивність, можливість вимірювання зразків без попередньої пробопідготовки, широкі діапазони елементів, що визначаються (від бору до урану) та їх кількості (від 100 до 10^{-4} мас. %), а у окремих випадках і нижче, здатність проводити одночасний аналіз цілого спектру мікроелементів, що дозволяє не помилитись в їх співвідношенні та здешевити проведення аналізу. Ще однією важливою перевагою даного методу є експресність проведення аналізу (декілька хвилин).

На сьогодні вже існують матеріальна та методична основи для проведення рентгенофлуоресцентного аналізу біопроб – портативні рентгенофлуоресцентні спектрометри [21] з високою чутливістю та роздільною здатністю, а також гостовані та затверджені МОЗ України методики виконання вимірювань на цих приладах [22, 23].

Специфічною особливістю визначення мікроелементного складу біопроб є те, що більшість елементів

мета даної роботи – вибір експрес-методики концентрування на прикладі такого біологічного матеріалу як людське волосся та розрахунок реальних коефіцієнтів підвищення чутливості визначення мікроелементів і важких металів для обраної методики концентрування.

2. Вибір методики концентрування

Обширні експериментальні результати останніх років по методам концентрування та розділення окремих елементів представлені у монографіях [27-29]. Найбільш розповсюдженими з них є:

1. Екстракція (включаючи екстракційну хроматографію) [30, 31],
2. Сорбційні методи (сорбція, іонообмінна та хелатна хроматографія) [32-34],
3. Осадження та співосадження [35],
4. Електрохімічні методи [36],
5. Мокре та термічне озолення [37].

Перші чотири групи методів традиційно використовують у хімічному аналізі речовин, але вони не можуть вважатись експрес-методами.

Мокре озолення використовують як основний метод руйнації органічної матриці біологічних зразків при нагріванні їх з кислотами (HNO_3 , H_2SO_4 , $HClO_4$). Мокре озолення органічних речовин повинно проводитись у витяжній шафі з потужною тягою. Привабливість цього методу полягає у тому, що зберігаються всі елементи зразка, але час підготовки зразків цим методом досягає 8-10 годин, а також потребує підвищеної акуратності та постійної уваги оператора. У більшості випадків саме ця стадія вносить найвагоміший вклад у похибку результатів аналізу [37].

Усі вищезазначені методи, окрім термічного озолення, вимагають допоміжних хімічних реактивів, що у свою чергу є загрозою привнесення побічних забруднень (домішок) до досліджуваної проби.

Метод термічного озолення полягає у нагріванні органічних речовин до високої температури з доступом повітря з ціллю виділення досліджуваних елементів у вигляді стійких неорганічних сполук. Досліджувані зразки подрібнюють та вносять до порцелянових тиглів. Потім відбувається нагрівання цієї системи (300-400 °C). При цьому полум'я не повинно торкатись дна тигля. Нагрівання тигля проводять таким чином, щоб його вміст поступово перетворювався на попіл і не було спалаху. Час озолення становить 3-4 години.

Недоліками цього методу є летучість деяких елементів або їх з'єднань (при відносно невисокій температурі частково чи повністю летять з'єднання ртуті, сірки та ін.), а також взаємодія окремих металів з матеріалами тиглів. Крім того, при термічному озоленні, важко контролювати температуру досліджуваного матеріалу безпосередньо у тиглі [37].

На практиці, при проведенні експрес аналізу волосся рентгенофлуоресцентним методом, спочатку проводять вимірювання зразка волосся у його природному агрегатному стані, і якщо після математичної обробки отриманого спектру є підстави сумніватися в наявності якогось елемента, то бажано провести процес концентрування цієї ж проби для повторного вимірювання. Як правило, в результаті повторного вимірювання концентрованої проби, зникають усі сумніви у наявності того чи іншого елемента, а також з'являється можливість і кількісно уточнити його реальну концентрацію.

В якості експрес-методу концентрування дуже привабливим є метод швидкого озолення, коли пробу нагрівають до дуже високої температури без прямого доступу повітря.

3. Експериментальні результати та їх аналіз

3.1. Зразки та методика

У якості біологічного матеріалу використовували людське волосся. Процес підготовки зразків і виконання вимірювань включає наступні етапи:

1. Приготування 50 мг подрібненої речовини волосся;
2. Пресування 50 мг речовини волосся у таблетку товщиною 1 мм і діаметром 10 мм;
3. Вимірювання таблетки з двох сторін на спектрометрі енергій рентгенівського випромінювання;
4. Термічне озолення таблетки волосся;
5. Зважування попелу та пресування у таблетку;
6. Вимірювання таблетки попелу з двох сторін.

Для зважування використовували лабораторні ваги ВЛР-30 з межею зважування 250 мг та границею сумарної похибки 0.1 мг (ГОСТ 24104-99).

Пресування волосся і попелу виконували на лабораторному пресі (ГОСТ 25088-67).

Термічне озолення волосся проводили за допомогою спеціально створеної експериментальної установки. Вона представляє собою систему з 2-х порцелянових тиглів з притертими поверхнями, газової горілки KOVEA, вентилятора та термостійкого екрану.

На стику, у місці контакту тиглів, немає щілин, щоб під час виконання термічного озолення запобігти прямому потраплянню полум'я на зразок та знизити прямий доступ повітря. Кожен із досліджуваних зразків волосся озолювали протягом 2 хвилин.

Для аналізу отриманих зразків було виконано серію вимірювань за допомогою спектрометра енергій рентгенівського випромінювання СЕР-01 виробництва ТОВ "ЕЛВАТЕХ". У процесі досліджень проаналізовано 10 проб волосся і 10 проб попелу. Кожен зразок вимірювали з двох сторін, з метою отримання набору статистичних значень, підвищення точності вимірювань і компенсації нерівномірності розподілення елементів по об'єму зразка. Для усіх зразків було знято відповідні спектри.

На рис.1. представлені спектри рентгенівської флуоресценції для зразка волосся та його попелу N 9 (X9).

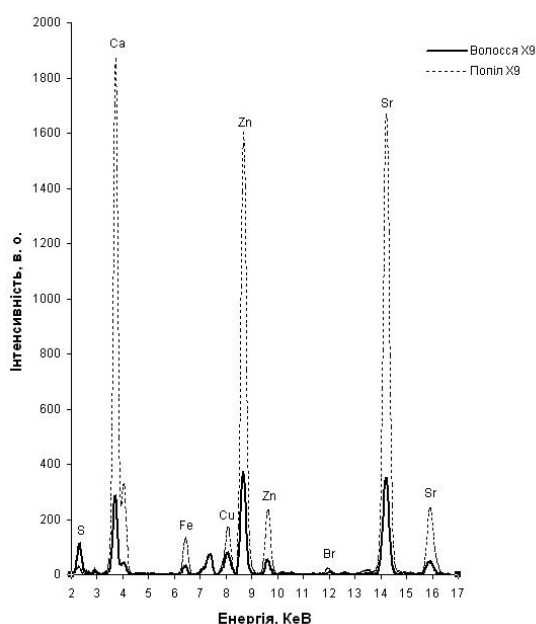


Рис. 1. Спектри зразка волосся та його попелу N 9

Добре видно, що у спектрі попелу аналітичні лінії деяких елементів (кальцію, заліза, цинку, бром та стронцію) значно інтенсивніші ніж у спектрі волосся, проте пік сірки у спектрі попелу зменшився.

3.2 Розрахунки та аналіз отриманих результатів

При проведенні вимірювань з отриманих спектрів визначали площі (S) під аналітичними лініями елементів. Коефіцієнт підвищення чутливості (C_s) розраховували за формулою:

$$C_s = \frac{S_a}{S_h}, \quad (1)$$

де (S_a) – площа під піком аналітичної лінії відповідного елемента у зразку попелу, а (S_h) – у зразку волосся. C_s для кожного елемента в окремо взятій пробі визначався як середнє арифметичне для обох сторін зразка:

$$C_{s.a} = \frac{C_{s.a1} + C_{s.a2}}{2}, \quad (2)$$

де $C_{s.a1}$, $C_{s.a2}$ – коефіцієнт підвищення чутливості і-го елемента для 1-ї і 2-ї сторони зразка.

Кінцеве значення коефіцієнта підвищення чутливості ($\langle C_{s.a} \rangle$) для кожного елемента по всім пробам є середнім арифметичним від $C_{s.a}$, визначеного для цього елемента у кожному зі зразків (табл. 2.):

$$\langle C_{s.a} \rangle = \frac{C_{s.a.x_1} + C_{s.a.x_2} + \dots + C_{s.a.x_N}}{N}. \quad (3)$$

де $x_1, x_2 \dots x_N$ – номер зразка, а N – кількість зразків.

Т а б л и ц я 1. Середнє значення коефіцієнта підвищення чутливості по всім зразкам для елементів, які концентрувались

Методи	$\langle C_{s.a} \rangle$	Δ , стандартне відхилення
S	0.23	0.05
K	9.23	0.13
Ca	7.49	1.44
Ti	29.95	8.22
Cr	7.92	1.65
Mn	20.37	4.37
Fe	7.25	1.12
Co	15.35	2.22
Ni	10.53	0.70
Cu	3.89	0.40
Zn	5.47	0.87
As	3.42	1.08
Se	5.06	0.14
Br	2.45	0.15
Rb	3.96	1.01
Sr	5.09	1.12
Cd	5.19	1.61
Sn	5.24	2.16
I	0.75	0.14
Ba	12.78	0.84
Ag	3.44	0.79
Hg	0.030	0.004
Pb	8.08	0.16

З усього списку елементів, у першу чергу, слід звернути увагу на важкі метали, з наведених даних (табл. 1) бачимо, що поріг знаходження для нікелю, свинцю, хрому та кадмію зменшився у 10.53, 8.08, 7.92 та 5.19 разів відповідно. Найвищі коефіцієнти підвищення чутливості отримано для титану (29.95), марганцю (20.37) та кобальту (15.35). У той же час видно, що метод термічного озолення, як і очікувалось, непридатний для визначення сірки (0.23), ртуті (0.03) та йоду (0.75). Для перевірки запропонованої методики було проаналізовано спектр волосся з сумнівним вмістом свинцю. На рис.2 представлено спектри порівняння зразків: волосся з сумнівним вмістом свинцю та його попелу.

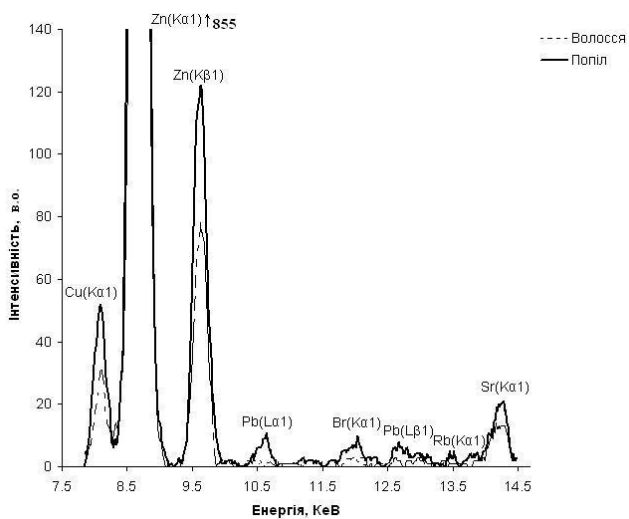


Рис. 2. Спектри зразка волосся з сумнівним вмістом свинцю та його попелу

Вміст свинцю до концентрування зразка – (0.0097 ± 0.0077) мкг, що відповідає похибці у 79%, а після озолення, з урахуванням коефіцієнта підвищення чутливості, отримано вміст свинцю у зразку – (0.0135 ± 0.0032) мкг та зменшено похибку до 23%.

4. Висновки

Запропоновано експрес-метод швидкого озолення біологічних проб, який дає можливість якісного визначення наявності елементів і у деяких випадках уточнити їх концентрації.

Експериментально визначено реальні коефіцієнти підвищення чутливості для важких металів та цілого ряду інших елементів.

На прикладі визначення свинцю в пробах волосся показано розширення можливостей застосування рентгенофлуоресцентного аналізу.

1. А. В. Кудрин, О. А. Громова, *Микроэлементы в иммунологии и онкологии* (ГЭОТАР-Медиа, Москва, 2007).
2. Майкл Циммерманн, *Микроэлементы в медицине (по Бургерштайну)* (Арнебия, Москва, 2006), M. Zimmermann *Burgersteins Mikronahrstoffe in der Medizin, Pravention und Therapie-Ein Compendium* (Haug Verlag, Heidelberg, 1999).
3. А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риш М, Л.С. Строчкова, *Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология* (Медицина, Москва, 1991).
4. А. И. Войнар, *Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека* (Высшая школа, Москва, 1960).

5. Л. Р. Ноздрихина, *Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека* (Наука, Москва, 1977).
6. А. И. Обухов, О. И. Плеханова, *Атомно-абсорбционный анализ в почвенно-биологических исследованиях* (Изд-во Моск. ун-та, Москва, 1991).
7. Н.Н. Петрова, Н.П. Макаренко, Т.К. Качалкова, Л.А. Хаземова, *Медицина труда и промышленная экология*, N 3 (2000).
8. Э.Г. Чудинов, *Атомно-эмиссионный анализ с индукционной плазмой Т.2* (ВИНИТИ, Москва, 1990).
9. I. Rodushkin, F. Odman, R. Olofsson, M. Axelsson, *J. Anal. At. Spectrom.* **15**, 8 (2000).
10. J. Begerov, M. Turflend and L. Dunemman, *J. Anal. At. Spectrom.* **12**, 9 (1997).
11. Elke E.M. Brouwers, Matthijs Tibben, H. Rosing, Jan H.M. Schellens, Jos H. Beijnen, *Mass Spectrometry Reviews* **27**, 2 (2008).
12. V. V. S. Ramakrishna, Vivek Singh and A. N. Garg, *J. Science of The Total Environment* **192**, 3 (1996).
13. L. I. Zhuk, A. A. Kist, *J. Radional. Chem.* **195**, 1 (1995).
14. Е. А. Осипова, *Соросовский Образовательный Журнал* **7**, N 2 (2001).
15. Дж. И. Джапаридзе, Н. В. Шавгулидзе, Н. С. Хавтаси, Л. Г. Енукидзе, И. З. Харисчаришвили, Е. К. Кириленко, С. Н. Гальченко, *Український журнал з проблем медицини праці* **14**, 2 (2008).
16. Т. А. Куприянова, О. И. Лямина, В. Ф. Семенов, *Клиническая лабораторная диагностика*, N 8 (1999).
17. Magdalena Szczerbowska-Boruchowska, *X-Ray Spectrometry* **37**, 1 (2008).
18. В. И. Федоров, *Клиническая лабораторная диагностика*, N 4 (2006).
19. Н.Ф. Лосев, А.Н. Смагунова *Основы рентгеноспектрального флуоресцентного анализа* (Химия, Москва, 1982).
20. Г. Фридман, *Успехи физических наук* **87**,4 (1965).
21. Сертификат Утверждения типа средств измерительной техники N UA-MI/1p-971-2009 (от 15.04.2009).
22. «Методика виконання вимірювань масової частки хімічних елементів у волоссі рентгено-флуоресцентним методом» N 12-4502 від 21.07.2000.
23. «Методика виконання вимірювань вмісту хімічних елементів в плазмі крові рентгено-флуоресцентним методом» N 081/12-0468-07 від 12.10.2007.
24. Г. К. Будников, *Сорос. образ. ж.* **6**, N 3 (2000).
25. А. И. Кирсанов, А. Ф. Долгодворов, В. Г. Леонтьев, И. А. Горбачева, В. Д. Романова, Л.С. Величко, В. В. Александров, *Клиническая лабораторная диагностика*, N 3 (2001).
26. L.Bennun, E.D. Greaves and J.J. Blostein, *X-Ray Spectrom.* **31**, 4 (2002).
27. Н. М. Кузьмин, Ю. А. Золотов, *Концентрирование следов элементов* (Наука, Москва, 1988).
28. А. Мицунке, *Методы концентрирования микроэлементов в неорганическом анализе* (Химия, Москва, 1986).

29. Л.Н.Москвин, Л.Г. Царицына, *Методы разделения и концентрирования в аналитической химии* (Химия, Ленинград, 1991).
30. Ю.А. Золотов, *Экстракция в неорганическом анализе* (Изд-во МГУ, Москва, 1988).
31. А.М. Розен, А.М. Сафиулина, *Жур. неорг. химии* **45**, N 12 (2000).
32. С.Б. Савин, В.П. Дедкова, О.П. Швоева, *Успехи химии* **69**, N 3 (2000).
33. Л. Д. Данилин, В. В. Жмайло, А. П. Мороров, В. В. Назаров, Н. В. Пилипенко, В. В. Чулков, В. Н. Фунин, *Рос. Хим. Ж.* **XLV**, N 5-6 (2001).
34. М.М. Сенявин, А.М. Долгонос, И.Н. Волощук, *Ионный обмен и ионная хроматография* (Химия, Москва, 1993).
35. Ю. Я. Харитонов, *Аналитическая химия Т.1* (Высшая школа, Москва, 2001).
36. D. Harvey, *Modern analytical chemistry* (The McGraw-Hill Companies, the USA, 2000).
37. Р. Бок, В.А. Трофимова (пер.) (*Методы разложения в аналитической химии*) (Химия, Москва, 1984), R. Bock, *A handbook of decomposition methods in analytical chemistry* (International Texbook Co., Glasgow, 1979).

ПОВЫШЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА БИОПРОБ С ПОМОЩЬЮ ТЕРМИЧЕСКОГО ЭКСПРЕСС-МЕТОДА КОНЦЕНТРИРО-

ВАНИЯ

С. М. Гальченко, П. А. Коротков, Е. К. Кириленко

Р е з ю м е

Представлены результаты практического использования методики повышения чувствительности в количественном рентгенофлуоресцентном анализе. Методика основывается на предварительном концентрировании элементов с помощью быстрого термического озоления. Проанализированы спектры волос и их пепла. Рассчитаны коэффициенты повышения чувствительности для тяжелых металлов и ряда других химических элементов.

SENSITIVITY INCREASE OF QUANTITATIVE X-RAY FLUORESCENCE ANALYSIS OF BIOASSAYS BY THE THERMAL RAPID CONCENTRATION METHOD

*S. N. Galchenko, P. A. Korotkov, E. K. Kirilenko*¹

Taras Shevchenko Kyiv National University
(2, Academician Glushkov Ave., Kyive 03127, Ukraine;
e-mail: Sveta.Galchenko@gmail.com),

¹ STC «Viria»

(44-V, Saksaganskogo Str., Kyive 01033, Ukraine)

S u m m a r y

The practical use results of sensitivity increase technique in quantitative X-ray fluorescence analysis are presented. The technique is based on the preconcentration of elements by means of rapid thermal ashing. Spectra of hair and their ashes are analysed. Sensitivity increase coefficients for heavy metals and some other chemical elements are calculated.