

(19)



(10) **LT 4079 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **4079**

(51) Int. Cl.⁶: **G01N 21/74**

(21) Paraiškos numeris: **95-034**

(22) Paraiškos padavimo data: **1995 03 27**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1996 10 25**

(45) Patent paskelbimo data: **1996 12 27**

(72) Išradėjas:

Stanislovas Ryselis, LT
Olegas Abdrachmanovas, LT
Nijolė Savickienė, LT

(73) Patent savininkas:

Kauno medicinos akademijos biomedicininų tyrimų institutas,
Eivenių g. 4, 3007 Kaunas, LT

(74) Patentinis patikėtinis:

Vytautas Guobys, 10, p/d 1392, 2056 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Sunkiųjų metalų kiekio plaukuose nustatymo būdas

(57) Referatas:

Išradimas skirtas analizei chemijai ir gali būti naudojamas nustatant bet kokių sunkiųjų metalų kiekį plaukuose.

Būdas susideda iš plaukų mėginio homogenizacijos tirpiklyje ir atominės-absorbcinės spektrofotometrinės analizės elektrotermografinėje krosnyje. Nauja yra tai, kad plaukų mėginį tirpina atvirame inde 0,2-1,0 % natrio šarme 2-24 valandas 50-90 °C temperatūroje. Mėginį masės dalimis sudaro plaukai - 0,020-0,100, natrio šarmas - 2,1-5,25, o į gautą tirpalą deda 0,02-0,10 g 3,72 % etilendiamintetraacto rūgšties dinatrio druskos tirpalo ir praskiedžia bidistiliuotu vandeniu iki analizuojamos koncentracijos.

Išradimas skirtas analizinei chemijai ir gali būti naudojamas nustatant bet kokių sunkiųjų metalų (kadmio, švino, vario, mangano, chromo, cinko, nikelio, geležies ir kitų) kiekį plaukuose. Sunkieji metalai toksiškai veikia gyvuosius organizmus, iškreipdami beveik visas jų funkcionavimo sistemas, sukeldami mutacijas ir apsigimimus, mažindami atsparumą ligoms. Todėl tiek gydymo tikslais, tiek mažinant antropogeninių faktorių įtaką žmogaus sveikatai, būtina įvertinti užterštumą sunkiaisiais metalais.

Tam tikslui labai tinka plaukai, kuriuose vyksta ilgalaikis sunkiųjų metalų kaupimas iš organizmo. Jų nustatymui tinkamiausias šiuolaikinis metodas yra elektrotermografinė Zeeman'o efekto absorbcinė spektrofotometrija (G.Schlemmer. // Analyse von biologischem Material mit der Graphitrohren - AAS. Sonderdruck, Git Verlag, Darmstadt, 1989). Ji pasižymi dideliu neselektyviosios absorbcijos kompensacijos pajėgumu, o tai leidžia labai jautriai ir selektyviai nustatinėti sunkiųjų metalų koncentracijas gerai homogenizuotoje organinės medžiagos skystoje fazėje. Čia plaukų tirpalo teisingas paruošimas ir analizės parametrai nulemia duomenų tikslumą.

Cheminėje analizėje naudojami įvairūs plaukų tirpalo paruošimo būdai (The Destruction of Organic Matter // by T.T. Gorsuch. - Pergamon Press Ltd., 1970. - p. 19-39). Žinoma sausa mineralizacija, platininiuose indeliuose sudeginant plaukus 400-500 °C temperatūroje, o liekanas tirpinant azoto rūgštyje ir gautą tirpalą analizuojant. Šio būdo trūkumas - dideli metalų (cinko, kadmio, švino) išlėkimo nuostoliai.

Taikoma ir "drėgnoji" mineralizacija, kurios metu įvairiais tirpikliais (koncentruota azoto, druskos, sieros, perchlorato rūgštimis, vandenilio peroksidu) bei jų mišiniais, esant atitinkamoms temperatūroms, mineralizuojami plaukai (Krishna, P. Sherestha and A.Oswaldo // Trace Elements in Hair of Epileptic and Normal Subjects. // The Science of the Total Environment, 67, p. 215-225, 1987, Amsterdam).

Žinomas sunkiųjų metalų kiekio plaukuose nustatymo būdas, susidedantis iš plaukų mėginio mineralizacijos autoklave ir atominės absorbcinės spektrofotometrinės analizės elektrotermografinėje krosnyje.

Minėtą autoklavą sudaro uždaras tefloninis indelis, įmontuotas į metalinį korpusą. Specialios veržlės pagalba palaikomas hermetiškumas ir atitinkamas slėgis. Į tefloninį indelį įpilama 2,5 ml koncentruotos azoto rūgšties ir 0,25 ml koncentruotos sieros rūgšties, pridedama 0,100 g išplautų acetonu plaukų pavyzdžio ir 6 valandas kaitinama 170 °C temperatūroje. Po to praskiedžiama bidistiliuotu vandeniu iki 25 ml ir analizuojama (Sebastian K., Th.W.Kaulich, L. von Korsa, K. Botzenhart and F. Schweinsberg. // Investigation of the Validity of Quantitative Determination of Cadmium and Lead in Human Hair by Atomic Absorbtion Spectroscopy. // Environmental Hygiene II, p. 141-144, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1990).

Tačiau taip gaunami plaukų mineralizantai yra stiprūs oksidatoriai ir todėl analizės bėgyje sparčiai ardo elektrotermografitinės krosnies atomizatoriaus paviršių. Tai pakeičia analitinio signalo pobūdį, iškreipia analizės rezultatus, mažina patikimumą, tačiau, svarbiausia - plaukų bandinys mineralizuojamas keliuose reagentuose, perpilant juos iš indo į indą, praskiedžiant ar koncentruojant, vykdant kitas analitines operacijas. Tai įneša reagentų priemaišų, indų sienelių ir sąlyčio (kontaminacinę) taršą sunkiaisiais metalais. Ji kartais siekia 500 ir daugiau procentų nuo nustatomo metalo kiekio. Iš kitos pusės, darbas su agresyviomis medžiagomis yra nesaugus ir sudėtingas, reikalauja papildomų finansinių išlaidų ir laiko sąnaudų.

Išradimo tikslas - išvengti sunkiųjų metalų taršos su mažesniu neagresyvių ir pigesnių reagentų kiekiu, supaprastinti ir atpiginti darbo operacijas, padidinti elektrotermografitinės įrangos tarnavimo laiką ir gauti tikslesnius rezultatus.

Šį uždavinį išsprendžia sunkiųjų metalų kiekio plaukuose nustatymo būdas, susidedantis iš plaukų mėginio homogenizacijos tirpiklyje ir atominės absorbcinės spektrofotometrinės analizės elektrografitinėje krosnyje, kuriame plaukų mėginį ne mineralizuoja, o tirpina atvirame inde 0,2-1,0 % natrio šarme 2-24 val. 50-90 °C temperatūroje, kur plaukų mėginys masės dalimis sudaro 0,020 - 0,100, natrio šarmas - 2,1-5,25, o į gautą tirpalą deda 0,02-0,10 g 3,72 % etilendiamintetraacto rūgšties dinatrio druskos tirpalo ir praskiedžia bidistiliuotu vandeniu iki analizuojamos koncentracijos.

Plaukų mėginio paruošimas pagal šį išradimą sumažina darbo operacijų ir naudojamos įrangos bei reagentų kieki, "vieno indo" principas pašalina taršą sunkiaisiais metalais, pagerina duomenų reprodukciją, todėl vienos analizės kaina sumažėja 2-3 kartus. Tiriamas plaukų bandinys tirpinamas tokiu būdu.

5 0,020-0,100 g plaukų mėginio dedama į minisorbcinį 0,005 l talpos graduotą plastmasinį mėgintuvėlį, užpilama 2,1-5,25 g 0,2-1,0 % natrio šarmo, laikoma 2-24 valandas 50-90 °C temperatūroje termostate. Į gautą tirpalą dedama 0,02-0,10 g 3,72 % etilendiamintetraacto rūgšties dinatrio druskos (EDTA-Na) tirpalo ir praskiedžiama iki 0,003-0,010 l bidistiliuotu vandeniu.

10 Mėgintuvėlis su tirpalu sumaišomas ir statomas į prietaisą analizei. Analizuojama klasikiniu "priedų" metodu.

Tam tikslui 5-40 mikrolitrų plaukų tirpalo automatinio dozatoriaus pagalba įvedama į atominio absorbcinio spektrofotometro (pvz., Zeeman 3030, Perkin-Elmer firmos, JAV) grafitinės krosnies atomizatorių. Keliant jo

15 temperatūrą, 90-160 °C temperatūroje plaukų tirpalas išgarinamas, po to, pakėlus temperatūrą iki 700-1000 °C, iš liekanų pirolizuojamos organinės matricos medžiagos, kurias pašalina pratekančios argono dujos. Likę metalų junginiai suskaldomi į atomus, staigiai pakėlus temperatūrą iki 1200-2600 °C. Tuo pačiu metu sukeliamas stiprus (0,8 Teslos) kintamas magnetinis laukas,

20 kuris Zeeman'o efekte leidžia spektrofotometru išmatuoti gryno metalo atominės absorbcijos dydį, atskiriant jį nuo neselektyviosios matricos liekanų absorbcijos. Lyginant gautus atominės absorbcijos signalus su standartų signalais, nustatomas tiriamų metalų kiekis mėginyje. Tinkamiausioms būdo įgyvendinimo sąlygoms rasti buvo ištirta reagentų ir plaukų kiekių,

25 temperatūros bei tirpinimo trukmės įtaka plaukų homogenizacijos pilnumui (žr. lentelę).

Pirmu atveju plaukai greitai ir pilnai ištirpsta, bet natrio šarmo koncentracija tirpale per didelė.

Penktu atveju plaukai nepilnai suardomi, todėl neįmanomas tikslus jų

30 dozavimas analizės metu.

Lentelė

Plaukų tirpinimo atvejai

Tirpinimo sąlygos	Tirpinimo atvejai				
	1	2	3	4	5
Reagentų kiekiai, masės dalimis					
-natrio šarmo	20	16	12	10	8
-plaukų	25	25	25	25	25
Tirpinimo	50-90	50-90	50-90	50-90	50-90
temperatūra, °C					
EDTA-Na ₂ priedas,	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
masės dalimis					
Reagentų galutinės koncentracijos, %					
-natrio šarmo	0,40	0,32	0,24	0,20	0,16
-EDTA-Na ₂	0,032	0,032	0,032	0,032	0,032
-plaukų	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Tirpalo būseną po:					
18 val.	x	x	-	-	-
24 val.	x	x	x	x-	-
48 val.	x	x	x	x	-
78 val.	x	x	x	x	-

Pažymėjimai: x skaidrus, - drumstas

5

Antru, trečiu ir ketvirtu atveju plaukai tirpsta lėčiau, bet gaunami pilnai homogenizuoti plaukų tirpalai, turintys mažiausiai galimą natrio šarmo koncentraciją. Tai garantuoja analizės tikslumą, bei patikimumą, nes nevyksta atomizacijos metu pasišalinančio natrio šarmo mechaninės kondensacijos grafitinio atomizatoriaus vamzdelio kontaktų tarpuose ir tuo sukeltų varžos ir temperatūrinių pokyčių. Iš kitos pusės, mažiausia galima natrio šarmo

10

koncentracija nevykdo pilnos sunkiųjų metalų hidrolizės iki hidroksidų nuosėdų atsiradimo, bet perveda juos į hidroksodruskas, o šios sudaro kompleksinius junginius su plaukų peptidų ir aminorūgščių sudėtyje esančiais ligandais - azotu, siera, fosforu, deguonimi.

- 5 Sunkiųjų metalų junginių nuosėdų susidarymui ir jų jonų adsorbcijai iš tirpalo ant indų sienelių išvengti, pridedama EDTA- Na_2 priedo. Tuo užtikrinamas ilgalaikis tirpalų stabilumas.

- 10 Gautų plaukų tirpalų šarminė terpė sudaro nelakius sunkiųjų metalų junginius, kurie nepasišalina nuostoliais garinimo ir pirolizės metu iš grafitinės krosnies, kuomet temperatūra pasiekia 600-1000 °C, kaip tai gali įvykti lakių rūgščių tirpaluose. Iš kitos pusės, plaukų tirpale esantis natrio šarmas nėra oksiduojantis ir atomizacijos temperatūrų intervale (1200-2600 °C) žymiai mažiau ardo elektrotermografitinio atomizatoriaus paviršių, gaunami tikslesni rezultatai, o pačios įrangos darbas prailgėja 3-5 kartus.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

- 5 Sunkiųjų metalų kiekio plaukuose nustatymo būdas, susidedantis iš plaukų mėginio homogenizacijos tirpiklyje ir atominės absorbcinės spektrofotometrinės analizės elektrotermografitinėje krosnyje, b e s i s k i r i a n t i s t u o, kad plaukų mėginį tirpina atviraime plastmasiniame inde 0,2-1,0 % natrio šarme 2-24 valandas 50-90 °C temperatūroje, kur plaukų mėginys masės
- 10 dalimis sudaro 0,020-0,100, natrio šarmas 2,1-5,25, o į gautą tirpalą deda 0,02-0,10 g 3,72 % etilendiamintetraacto rūgšties dinatrio druskos tirpalo ir praskiedžia bidistiliuotu vandeniu iki analizuojamos koncentracijos.