

УДК 546.49:542.61:616.15

М.Б. Калитовська, І.Й. Галькевич

**ТВЕРДОФАЗНА ЕКСТРАКЦІЯ МЕРКУРІЮ ІЗ ПЛАЗМИ КРОВІ ЛЮДИНИ
Н-КЛИНОПТИЛОЛІТОМ***Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
м. Львів, Україна,*

e-mail: myroslava.kalytovska@gmail.com

Резюме: Досліджено процес твердофазної екстракції меркурію із плазми. Високий відсоток сорбції білків Н-клинотилолітом дозволяє вилучати іони меркурію із плазми у зв'язаному стані. Сорбується до 93,8% токсиканту. Вплив ультразвуку та використання водно-метанольного розчину елюенту частково руйнує зв'язок металу із білком на твердій фазі сорбенту. Вибрано умови для реекстракції іонів меркурію із подальшим визначенням спектрофотометричним методом. Як елюент використано суміш 1 М водного розчину калію хлориду і метанолу (1:1).

Ключові слова: Н-клинотилоліт, сорбція, десорбція, меркурій, плазма.

Вступ. Токсичні метали, зокрема меркурій, є досить небезпечними для людського організму. Потрапляючи із повітрям¹⁰ чи водою, вони швидко розподіляються по усьому організму людини через систему крові¹. Сполуки меркурію спричиняють захворювання центральної нервової та серцево-судинної систем⁵, шлунку, печінки та нирок. При хронічних отруєннях спостерігаються емоційна нестабільність, дратівливість, зниження працездатності, порушення сну, тремтіння пальців рук, зниження нюху та головні болі. Для зменшення їх негативного впливу необхідно швидко діагностувати вид отруєння та надати відповідну допомогу. Для визначення сполук меркурію у біологічних рідинах використовують переважно метод безполуменевої атомізації⁶. Проте у більшості лабораторій дане обладнання відсутнє. Тому пошук інших методів, зокрема спектрофотометричного, придатних для визначення іонів меркурію у біологічних рідинах є необхідним. Але спочатку необхідно вилучити досліджуваний токсикант із біологічного матеріалу та перевести його у стан, в якому можна проводити визначення тим чи іншим фізико-хімічним методом.

Перспективними сорбентами для вилучення іонів важких металів із складних об'єктів є природні цеоліти, які проявляють вибірково селективність до одно- та двозарядних іонів металів, зокрема цезію, стронцію, барію, плумбуму, меркурію, кадмію, кальцію, натрію, магнію та ряду інших металів⁷. Родовища одного із них (клинотилоліту) знаходяться в Україні². Клинотилоліт – алюмосилікат із каркасною будовою, що містить

однорідні пори молекулярних розмірів, в яких містяться іонообмінні катіони та молекули води. Вільний внутрішньо-кристалічний об'єм сорбенту становить 0,34 від загального об'єму цеоліту. Ідеалізована формула клинотилоліту³: $(\text{Na,K})_4\text{CaAl}_6\text{Si}_{30}\text{O}_{72} \cdot 24\text{H}_2\text{O}$.

Рухливість катіонів та їх здатність до іонного обміну визначає високі сорбційні властивості клинотилоліту, які на сьогодні широко використовують для очистки природних та стічних вод від іонів важких металів⁹. Однак відсутні дані про можливість використання клинотилоліту для концентрування іонів меркурію з водних розчинів та для аналізу біологічних об'єктів.

Мета дослідження – дослідити ефективність твердофазної екстракції іонів меркурію із плазми крові людини модифікованим клинотилолітом та реекстракції даних іонів із сорбенту.

Матеріали та методи дослідження. У роботі використовувався клинотилоліт із родовища с. Сокириця Хустського р-ну Закарпатської обл. Для дослідження відібрана фракція із розміром зерен 0,2 мм. Н-форму сорбенту отримували обробкою клинотилоліту 1М розчином HCl протягом 24 год. із наступним промиванням, висушуванням та зберіганням в ексікаторі. Масова частка основного компонента у цеоліті становить 85–90%. Плазму для досліджень отримували у Львівському обласному центрі служби крові. Для приготування досліджуваних зразків у плазму вводили різні кількості іонів меркурію у вигляді стандартного розчину.

Стандартний розчин із вмістом 200 мкг/мл іонів меркурію готували із точної наважки

0,0272 г меркурію (II) хлориду, кваліфікації х.ч., яку розчиняли у дистильованій воді в колбі ємністю 100 мл.

Вміст білків у плазмі до та після сорбції визначали фотоколориметрично біуриновим методом.

Для створення рН, необхідного для дослідження сорбції клиноптилолітом та десорбції іонів меркурію, використовували 0,1М та 1М розчини нітратної кислоти та натрію гідроксиду.

Для кількісного визначення іонів металу використовували 0,05% розчин сульфарсазону (мононатрієва сіль (2-арсоно-4-нітрофеніл)-1,4-діазааміноазобензол-4 сульфокислоти), який готували розчиненням 50 мг барвника у дистильованій воді в присутності 1,01 г натрію тетраборату.

При розчиненні 750 мг амонію хлориду, 5 мл 25% розчину амонію гідроксиду та додаванні дистильованої води до 100 мл, одержували аміачний буферний розчин з рН 9,8. Буферний розчин з рН 9,6 отримували додаванням до попереднього розчину 0,1 М амонію хлориду.

Сорбційні властивості вивчали у динамічних умовах, для чого готували сорбційні патрони, що містили по 0,6 г підготовленого Н-клиноптилоліту.

Через сорбент пропускали по 1 мл розчинів плазми, що містили іони металу, із швидкістю 5 кр. за хвилину.

Десорбція проводилась у статичних та динамічних умовах. У статичних умовах сорбент збовтували з 10 мл відповідного елюенту протягом 10 хв. У динамічних умовах через сорбент пропускали елюент із швидкістю 10 кр. за хвилину.

Кількісне визначення сорбованих та десорбованих іонів меркурію здійснювали спектрофотометрично за реакцією із сульфарсазоном ($C_{18}H_{14}O_8N_6SAsNa$) у присутності аміачного буферного розчину (рН 9,6). Іони меркурію в інтервалі рН 8,7–10,2 утворюють із сульфарсазоном стійку комплексну сполуку складу 1:1⁸.

Вимірювання світловбирання проводили за допомогою спектрофотометра СФ-56 (довжина хвилі 490 нм, товщина робочого шару кювети – 10 мм) методом добавок та градуовального графіка.

Лінійна залежність світловбирання розчинів від концентрації іонів металу зберігається в межах концентрацій 1–60 мкг в 10 мл кінцевого об'єму.

Відсоток сорбованих іонів меркурію розраховували за формулою: $R_c = \frac{m_{ads}}{m_0} \times 100(\%)$, де

m_{ads} – маса адсорбованих іонів металу, мкг; m_0 – маса іонів металу у вихідному розчині, мкг.

Відсоток десорбованих іонів меркурію розраховували за формулою: $R_{des} = \frac{m_{des}}{m_{ads}} \times 100(\%)$,

де m_{des} – маса десорбованих іонів металу, мкг; m_{ads} – маса адсорбованих іонів металу фазою клиноптилоліту, мкг.

Результати дослідження та їх обговорення. У попередніх дослідженнях⁴ нами встановлено, що іони меркурію із модельних розчинів крові максимально сорбуються при рН 13,5, а реекстрагуються при рН 6,0 водним розчином 1М калію хлориду.

Було встановлено, що Н-клиноптилолітом вилучається до 73% загального білку із плазми, що була пропущена через сорбційний патрон. Завдяки переведенню природного цеоліту в Н-форму збільшуються розміри вхідних пор клиноптилоліту, що дає можливість вилучати із розчину плазми великі за розміром білкові молекули. Оскільки іони меркурію у плазмі зв'язуються із білками, то їх вилучення із досліджуваних розчинів можна проводити в цих умовах.

Для вилучення меркурію із плазми ми створювали рН 13,5, що відповідає його максимальній сорбції поверхнею цеоліту. Проте кращі результати отримано при пропусканні плазми (рН 7,35) через сорбент, на якому створювали рН 13,5 за допомогою розчину натрію гідроксиду. З метою збільшення розміру вхідних пор цеоліту і покращення його сорбційних властивостей перед пропусканням досліджуваної рідини ми проводили обробку цеоліту 1 М хлоридною кислотою. Така обробка сприяє сорбції великих за розмірами білків плазми, з якими зв'язані іони меркурію. У даних умовах сорбція становила 93,8%. У подальших дослідженнях використовували такі ж умови сорбції меркурію. Підготовка Н-клиноптилоліту полягала у промиванні його 1 М хлоридною кислотою, а потім розчином натрію гідроксиду із рН 13,5. Далі через сорбційний патрон пропускали досліджувані розчини плазми, що містили 25–668 мкг/мл іонів меркурію. Результати наведено у табл. 1.

При зміні концентрації введених іонів меркурію у плазмі відсоток сорбції меркурію становить в середньому 93,8%.

Для дослідження процесу десорбції іонів меркурію із цеоліту, ми готували серії зразків плазми, в які вводили по 200 мкг/мл іонів меркурію. Через 40–60 хв. пропускали по 1 мл кожного зразка плазми через сорбційний

патрон, який був підготовлений, як описува- лося вище.

Таблиця 1. Результати сорбції іонів ртуті Н-клинотилітом із плазми

mHg ²⁺ введ. в плазму, мкг/мл	Сорбція, %	Метрологічні характеристики		
		S _x	S ²	ε
25,0	99,9±0,1	0,039	0,008	0,10
54,0	95,1±0,6	0,198	0,195	0,63
88,0	92,7±1,7	0,620	1,920	1,83
100,0	94,1±1,8	0,622	1,935	1,91
134,0	91,9±3,1	1,101	6,058	3,37
150,0	92,8±2,0	0,706	2,493	2,16
200,0	94,6±5,6	2,024	20,489	5,92
250,0	93,8±1,6	0,576	1,660	1,71
334,0	93,1±3,3	1,183	6,990	3,54
668,0	90,0±1,1	0,387	0,750	1,22

Після сорбції ртуті із плазми, сорбент двічі обробляли елюентом (порціями по 10 мл). Як елюент використовували водний розчин 1 М калію хлориду із рН 6,0.

Дослідження процесу десорбції іонів ртуті із цеоліту у статичних умовах показало, що іони ртуті не елюються в даних умовах (<3%). Такі результати можна пояснити тим, що зв'язок іонів ртуті із білком є досить міцним. Проте властивості цього комплексу на твердій фазі сорбенту будуть іншими, ніж у розчині. З метою послаблення цього зв'язку ми вводили у розчин елюенту органічний розчинник.

Для реекстракції іонів ртуті використовували суміш 1М водного розчину калію хлориду з метанолом, взятих у співвідношенні 1:1. Десорбція проводилася у динамічних умовах. Через сорбційні патрони пропускали елюент, об'ємом 15 мл із швидкістю 10 кр. за хвилину. Однак при цьому реекстракція токсиканту не перевищувала 8–11%.

Зміна співвідношення між об'ємами 1М розчину калію хлориду і метанолу (1:8, 1:4) зменшувала відсоток десорбції. При використанні таких органічних розчинників, як етанол, ацетон та ацетонітрил десорбція іонів ртуті теж була незначною (<8%).

Лише завдяки дії на плазму ультразвуку (табл. 2), частотою 42 кГц та потужністю 50 Вт нам вдалося значно покращити десорбцію іонів ртуті, сорбованих із плазми модифікованим клинотилітом.

Таблиця 2. Вплив ультразвуку на десорбцію іонів ртуті

Тривалість дії ультразвуку, хв.	Десорбція, %
0	8,0±1,5
10	16,0±0,9
30	28,0±1,2
60	42,6±1,8

Тому плазму, перед пропусканням через клинотиліт, піддавали дії ультразвуку, тривалістю 60 хв. Очевидно, ультразвук послаблює зв'язок металу із білком, а далі на твердій фазі сорбенту проходить частковий розрив цього зв'язку під дією метанолу та електродію.

Досліджуючи залежність десорбції іонів ртуті, сорбованих із плазми, від концентрації введених іонів металу ми одержали результати, наведені у табл. 3.

Таблиця 3. Результати десорбції іонів ртуті із Н-клинотиліту, сорбованих із плазми

mHg ²⁺ введ. в плазму, мкг/мл	Десорбція, %	Метрологічні характеристики		
		S _x	S ²	ε
25,0	45,2±1,7	0,599	1,793	3,76
54,0	44,1±3,0	1,093	5,968	6,80
100,0	42,6±1,8	0,630	1,983	4,23
150,0	49,2±1,2	0,414	0,858	2,44
200,0	53,9±1,7	0,596	1,773	3,15
250,0	48,0±1,6	0,556	1,543	3,33
334,0	47,2±0,8	0,297	0,440	1,69

Зразки плазми (по 2 мл), що містили іони ртуті в інтервалі концентрацій

25–334 мкг/мл піддавали дії ультразвуку протягом 60 хв.

Після пропускання по 1 мл кожного зразку плазми через цеоліт, який був промитий 1 мл 1М хлоридної кислоти та 2 мл розчину натрію гідроксиду із рН 13,5, проводилася десорбція іонів ртуті. Для цього, через

сорбент пропускали 15 мл елюенту із швидкістю 10 кр. за хвилину.

Десорбція іонів ртуті із плазми становила в середньому 47,2%.

Висновки:

1. Завдяки високій сорбції білків Н-формою клиноптилоліту, вилучення ртуті із плазми можна проводити у зв'язаному стані. Це дає можливість уникнути тривалої процедури деструкції біологічного матеріалу, необхідної для переведення ртуті в іонний стан.
2. Сорбцію ртуті, зв'язаного із білками плазми, доцільно проводити пропусканням біологічної рідини через сорбент, який попередньо промито хлоридною кислотою та розчином натрію гідроксиду із рН 13,5.
3. Ефективним елюентом для реекстракції іонів ртуті, сорбованих із плазми є розчин 1 М калію хлориду з метанолом у співвідношенні 1:1.
4. Комбінована дія ультразвуку та органічного розчинника дозволяє частково зруйнувати зв'язок білку з іонами металу та провести його подальше кількісне визначення спектрофотометричним методом.

Література:

1. Бойд Э. Хейли. Токсичность ртути: генетическая предрасположенность и синергические эффекты / Бойд Э. Хейли [перекл. перекл. Н. Кузнецовой] // Medical Veritas. – 2005. – №2. – С. 535-542.
2. Василечко В. Адсорбція Рb(II) на Закарпатському клиноптилоліті / В. Василечко, Г. Гришук, І. Нерода // Вісник Львівського університету. Серія хімія. – 2009. – Вып. 50. – С. 177-187.
3. Гафанова Л.И. Диелектрическая дисперсия воды в ион-замещенном клиноптилолите / Л.И. Гафанова, Д.В. Сараев, Ю.А. Гусев // Структура и динамика молекулярных систем. – 2003. – Вып. X, Ч. 1. – С. 354-357.
4. Калитовська М.Б. Дослідження твердофазної екстракції іонів ртуті у водних та модельних розчинах із використанням модифікованого клиноптилоліту / М.Б. Калитовська // Фармакологія та лікарська токсикологія. IV Національний з'їзд Фармакологів України Тези доповідей, 10-12 жовтня 2011. – Київ. – №5 (24) – С. 145.
5. Соломенчук Т.М. Елементарний склад волосся хворих на інфаркт міокарда як індикатор впливу ксенобіотиків / Т. М. Соломенчук, С.В. Фус // Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. – 2009. – №1-2. – С. 104-110.
6. Трахтенберг І.М. Визначення вмісту ртуті в об'єктах виробничого, навколишнього середовища і біологічних матеріалах : Методичні вказівки МВ 102.1 – 113. / За ред. І.М. Трахтенберга, Л.М. Шафанова, В.П. Антоновича. – К. – 2005. – 58 с.
7. Цеолиты – перспективы развития // Бюро инновационных технологий. – 2008. – №7. – С. 54-67.
8. Чернова С.П. Использование некоторых азореагентов при определении содержания ионов Рb (II), Cd (II), Hg (II) / С.П. Чернова, Л.В. Трубочева // Химия. – 2006. – №8. – С. 223-230.
9. Яновська Е.С. Наукові основи безвідходної технології доочищення промислових стічних вод від сумішей іонів важких металів / Е.С. Яновська, І.В. Затовський, М.С. Слободяник // Екологія довкілля та безпека життєдіяльності. – 2008. – №5. – С. 50-54.
10. Health risks of heavy metals from long-range transboundary air pollution / World Health Organization. – Geneva. – 2007. – 129 p.

УДК 546.49:542.61:616.15

ТВЕРДОФАЗНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ РТУТИ С ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА Н-КЛИНОПТИЛОЛИТОМ

М.Б. Калитовская, И.И. Галькевич

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, г. Львов, Украина

Резюме: Исследовано процесс твердофазной экстракции ртути из плазмы. Высокий процент сорбции белков Н-клиноптилолитом позволяет извлекать ионы ртути из плазмы в связанном состоянии. Сорбируется до 93,8% токсиканта. Влияние ультразвука и использование водно-метанольного раствора элюента частично разрушает связь металла с белком на твердой фазе сорбента. Выбраны условия для реекстракции ионов ртути с последующим определением спектрофотометрическим методом. Как элюент использована смесь 1 М водного раствора калия хлорида и метанола (1:1).

Ключевые слова: Н-клиноптилолит, сорбция, десорбция, ртутный, плазма.

UDC 546.49:542.61:616.15

THE SOLID PHASE EXTRACTION OF MERCURY FROM HUMAN BLOOD PLASMA BY H-CLINOPTILOLITE

M.B. Kalytovska, I.Y. Halkevych

Danylo Haltsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Summary: The solid phase extraction of mercury from plasma is investigated. Large percentage of albumin sorption by H-clinoptilolite allows mercury ions extraction from plasma in a conjugated state. 93.8 % of a toxicant is sorbed. The impact of ultrasound and water-methanol eluent solution partly destroy the metal-albumin bond at a solid phase of sorbent. The conditions for mercury ions re-extraction with subsequent spectrophotometric determination are defined. The eluent is a mixture of 1 M aqueous potassium chloride solution and methanol (1:1).

Keywords: H-clinoptilolite, sorption, desorption, mercury, plasma.

Надійшла до редакції 23.02.2012 р.