

УДК 543.552 .054.1-0.34:615.9

Купчик Е.Ю., к.х.н., доц.

СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В БИОСУБСТРАТАХ ЛЮДЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В Г. ЧЕРНИГОВЕ

*Черниговский национальный педагогический университет имени Т.Г.Шевченко;
14013, г. Чернигов, ул. Гетьмана Полуботка, 53; e-mail: chnpu @ chnpu.edu.ua*

В настоящее время скорость увеличения антропогенного воздействия и интенсивность его влияния уже выходят за пределы биологической адаптации экосистем к изменениям окружающей среды и создают прямую угрозу жизни и здоровью человека. Вследствие расширения набора предметов постоянного пользования, увеличения отходов промышленности, интенсификации технологических процессов, производства новых препаратов резко возросла химическая нагрузка на биосферу. Все это открывает возможность экспозиции токсичными металлами не только в рабочих зонах, но и в естественной среде обитания. Загрязнение тяжелыми металлами вызывает особую озабоченность, поскольку их потенциальная аккумуляция в окружающей среде и живых организмах приводит к долгосрочным токсическим эффектам [1].

Экспозиция кадмия приводит к поражению почек, костей, эндокринной системы, раку; кадмий способен заменять эссенциальные элементы (Ca, Zn, Se, Cr и Fe), ингибирует синтез протеинов и ферментов. При высоких уровнях экспозиция свинца вызывает энцефалопатию, когнитивное расстройство, нарушение поведения, повреждение почек, анемию, токсичен для репродуктивной системы, может приводить к раку почек, желудка, кишечника. Медь играет эссенциальную роль в биохимических и физиологических процессах, являясь составной частью ферментов и кофакторов (а также Zn и Se), однако при избытке приводит к сердечнососудистым заболеваниям, атеросклерозу, повреждению центральной нервной системы, анемии. Цинк участвует в синтезе белка, ДНК, РНК, необходим для активации гормонов тимуса (зобной железы), играет важную роль в защите от опухолей [1, 2].

Наиболее информативными маркерами воздействия химических элементов для эколого-гигиенических исследований и ранней клинической диагностики микроэlementозов принято считать те ткани и органы, которые депонируют и накапливают элементы [2].

Ногти, как и волосы, служат информативным материалом из-за особого механизма поступления в них микроэlementов: в период роста они подпитываются циркулирующей кровью, лимфой, внеклеточной жидкостью, к моменту выхода из ростковой зоны затвердевают и жестко фиксируют состав и соотношение накопленных за фазу роста веществ и микроэlementов [1, 3].

Ногти имеют ряд преимуществ для микроэlementного анализа: неинвазивность пробобора; простота транспортировки; возможность длительного хранения образцов ногтей без специальных условий; возможность оценки долгосрочного воздействия, выявление динамики накопления токсикантов. Из-за малой скорости роста (0,05-1,2 мм в неделю), ногти способны выявить историю экспозиции (в отличие от образцов крови, мочи, слюны) [1].

Ногти имеют преимущества перед волосами, поскольку элементный состав последних зависит от цвета, что ограничивает использование данного биообразца. Кроме этого, ногти отличаются высоким уровнем бионакопления: содержание ряда металлов (Pb, Cd, Cr, Al, Sn) в ногтях превышает аналогичный параметр в волосах, что используется для биомаркера воздействия токсичных металлов на организм человека и служит одним из критериев оценки загрязнения окружающей среды [1].

К недостаткам ногтей как биоматрицы для микроэlementного анализа можно отнести возможность загрязнений вследствие

постоянного контакта с окружающей средой и необходимостью пробоподготовки (т.к. большинство аналитических методов ориентировано на анализ жидких проб). Тем не менее, в настоящее время определение микроэлементного состава производных эпидермиса (волосы, ногти) является одним из основных методов оценки элементного статуса популяции [6].

Для определения элементного состава твердых биологических проб используются различные аналитические методы, такие как атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, атомно-абсорбционная спектрометрия с электронотермической атомизацией и с пламенной атомизацией, рентгенофлуоресцентный и нейтронно-активационный анализ, спектрофотометрия, электрохимические методы [1, 3, 4]. Однако, несмотря на аналитические возможности перечисленных выше методов, ни один из них не отвечает всем критериям, чтобы быть многоэлементным, простым, чувствительным, дешевым, пригодным для рутинного анализа.

В этой работе сделана попытка продемонстрировать возможности определения элементного состава ногтей с помощью метода инверсионной вольтамперометрии. Данный электрохимический метод анализа широко используются в определении микроконцентраций токсичных металлов. Несмотря на то, что метод многоэлементный, определение зачастую ограничивается 2-5 металлами. Однако, он обладает рядом преимуществ: низкими пределом обнаружения (за счет встроенного этапа концентрирования), селективностью, низкой стоимостью и компактностью приборов, возможностью выполнения измерений в реальном времени [5].

Экспериментальная часть

В исследовании принимали участие по 10 детей-дошкольников (воспитанники ДДУ) в возрасте 1-3 и 4-6 лет, соответственно. Это относительно здоровые дети, которые находятся в сравнительно одинаковых условиях питания, воспитания и медицинского обслуживания. Выборка состояла из детей, родители которых дали согласие участия в эксперименте. Образцы ногтей мужчин и женщин в возрастной категории до и после

40 лет, которые добровольно приняли участие в эксперименте, были собраны в маникюрных салонах.

Перед отбором образцов ногтей дети и взрослые тщательно мыли руки с мылом и высушивали их бумажными полотенцами. Образцы ногтей отбирались путем среза стерильными стальными ножницами со всех пальцев обеих рук. Для хранения образцы помещались в чистый полиэтиленовый пронумерованный пакет.

Образцы ногтей были выскоблены и очищены от частиц пыли неионным детергентом (тритон-100), что следует по стандартной процедуре [3], затем для устранения поверхностного загрязнения вымачивались в ацетоне и в конце ополаскивались 5 раз дистиллированной водой, после чего высушивались в сушильном шкафу при 110°C в течение 10 минут и взвешивались.

Образцы ногтей подвергались пробоподготовке путем «мокрого» озоления с добавками с целью разложения органической составляющей матрицы и перевода определяемых элементов в раствор в электрохимически активных формах. Для этого использовали программированную печь ПДП – Lab. Навеску ногтей (в среднем 0,05 г) смешивали с 2,5 мл конц. нитратной кислоты в кварцевом стакане, затем нагревали до температуры 150-180°C до растворения пробы и упаривали до 1/3 первоначального объема. Затем добавляли 2 мл конц. нитратной кислоты и 1 мл 30 %-ного раствора пероксида водорода и выпаривали досуха в течение 60-70 мин при температуре 150-350°C. Пробу озолляли при температуре 450°C в течение 30 мин. Операцию добавления нитратной кислоты, пероксида водорода, выпаривания и озоления повторяли три раза до получения однородной золы белого, желтого или серого цвета. Зола растворяли в 1 мл муравьиной кислоты и разбавляли бидистиллятом до 10 мл. В кварцевую электрохимическую ячейку добавляли 10 мл дистиллированной воды, 0,2 мл муравьиной кислоты и аликвоту пробы объемом 2 мл [6].

Содержание тяжелых металлов определяли на анализаторе вольтамперометрическом TA-Lab (НПП «Томьаналит», РФ) в трехэлектродной электрохимической ячейке. В качестве индикаторного электрода

применяли амальгамный электрод. В качестве электрода сравнения и вспомогательного электрода использовали хлорсеребряный электрод, заполненный раствором 1 М хлорида калия.

Анализ проводили на фоновом электролите, содержащем 200 мкл конц. муравьиной кислоты (х.ч.), при следующих условиях: электрохимическая очистка индикаторного электрода при потенциале +0,050 В в течение 15 с, накопление металлов на поверхности индикаторного электрода при потенциале -1,500 В в течение 60 с, успокоение раствора при потенциале -1,300 В в течение 5 с, анодное окисление металла при линейной развертке потенциала со скоростью 80 мВ/с. Относительная погрешность такого анализа не превышает 7 %. Пробу каждого образца ногтей анализировали в трех параллельных опытах. Определение металлов проводили методом добавок с использованием стандартных растворов, содержащих по 1 мг/л или 10 мг/л каждого из определяемых металлов, которые были приготовлены на основе государственных стандартных образцов и бидистиллята. Расчет концентрации металлов выполняли с помощью специализированной компьютерной программы TA-Lab (версия 3.6.10).

Результаты обрабатывали методом математической статистики по известной методике; рассчитывали среднее значение и интервальное значение с доверительной вероятностью 95 %.

Результаты и их обсуждение

В качестве примера на рисунке 1 представлены типичные примеры вольтамперных кривых фона (1), пробы ногтей без добавления (2) и с добавкой (3) анализируемого металла, полученные для образца пробы ногтей № 1 (масштаб 5:1).

Из рисунка 1 видно, что на вольтамперных кривых раствора фона в интервале потенциалов от -1200 мВ до +100 мВ отсутствуют пики тока окисления (кривая 1). Это свидетельствует о чистоте фонового электролита, а именно об отсутствии в нем цинка, кадмия, свинца и меди, поскольку в условиях регистрации вольтамперной кривой возможно анодное растворение ранее сконцентрированных на

индикаторном электроде только этих металлов. На вольтамперных кривых пробы ногтей имеются три максимума тока – при потенциалах -900, -550 и -320 мВ, которые соответствуют процессам анодного окисления цинка, кадмия и свинца. Медь в анализируемой среде не обнаружена (пик тока окисления меди отсутствует). При введении в раствор пробы добавок стандартного раствора на вольтамперных кривых пики тока окисления цинка, свинца и кадмия возрастают пропорционально увеличению концентрации этих металлов. При введении ионов меди появляется пик тока окисления при потенциале -50 мВ (кривая 3).

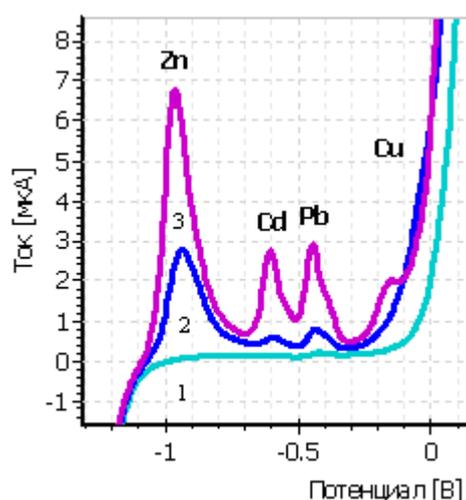


Рис. 1. Вольтамперограммы пробы ногтей.

Аналогичные вольтамперные кривые зарегистрированы для других изучаемых образцов ногтей.

По разности вольтамперных кривых пробы с добавкой, пробы и фонового электролита рассчитано содержание тяжелых металлов в ногтях человека. Результаты определения содержания цинка, кадмия, свинца и меди приведены в таблице 1.

Из таблицы 1 следует, что ни в одном образце ногтей не была обнаружена медь. Причинами дефицита меди является недостаточное ее поступление, длительный прием антибиотиков, кортикостероидов, нестероидных противовоспалительных препаратов и нарушение регуляции обмена меди. Во всех образцах, отобранных для испытания, содержится цинк, кадмий и свинец, причем очевидно, что с возрастом количество тяжелых металлов в ногтях увеличивается (рис. 2).

Таблиця 1. Содержание Zn, Cd, Pb и Cu в ногтях

Категория	№ п/п (возраст)	Микроэлементы, мг/кг			
		Zn	Cd	Pb	Cu
Дети	1 (1-3)	13±4	0,75±0,24	4,7±1,4	не обн.
	Пределы [7]	117,8-271,4	0,24-0,99	5,75-9,33	12,6-19,24
	2 (4-6)	50±16	1,10±0,35	5,1±1,5	не обн.
	Пределы [7]	87,53-206,66	0,24-0,60	4,06-8,53	14,68-20,55
Мужчины	3 (>40)	102±28	8,4±2,3	6,0±1,8	не обн.
	4 (<40)	67±18	6,5±1,5	4,3±1,3	не обн.
Женщины	5 (>40)	94±21	5,0±0,3	2,1±0,7	не обн.
	6 (<40)	74±26	3,7±1,0	2,0±0,6	не обн.

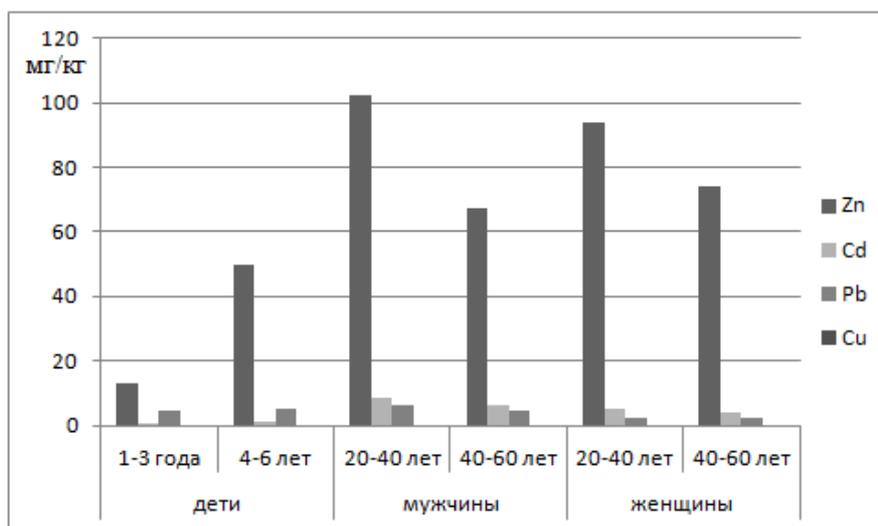


Рис. 2. Концентрация тяжелых металлов в ногтях жителей г. Чернигова.

В литературе были найдены пределы содержания тяжелых металлов в ногтях только для детей. Однако эти нормы условны, так как были рассчитаны самими авторами для своей выборки. Тем не менее, очевидно, что содержание токсичных элементов Pb находится в пределах нормы, а вот Cd у детей в возрасте 4-6 лет превышает допустимый уровень практически в 2 раза. Содержание эссенциального элемента Zn наоборот ниже нормы, причем для детей в возрасте 4-6 лет в приблизительно 1,5-4 раза, а для 1-3 года ниже нормы в 10-20 раз. Это может быть обусловлено в первом случае избыточным потреблением детьми продуктов богатых фитатами (напр., макарон), которые связывают цинк, препятствуя его усвоению, а во втором – недостаточным поступлением данного микроэлемента с пищей.

Полученные результаты по концентрации исследуемых микроэлементов в ногтях

были сравнены с результатами исследования волос жителей данного города, полученными нами ранее [8] (рис. 3).

Как видно из рис. 3, данные по содержанию микроэлементов в ногтях и волосах жителей Чернигова практически согласуются между собой. Тенденция преобладающего содержания цинка сохраняется в биосубстратах организма жителей: наибольшее содержание у мужчин, затем у женщин, а потом уже у детей. Содержание цинка у детей увеличивается с возрастом, что согласуется с литературными данными [9]. Дети младшего дошкольного возраста получают недостаточное количество данного элемента с пищей и из окружающей среды. По данным литературы [2] антагонизм между цинком и кадмием проявляется на уровне металлотионина и накопление одного из элементов понижает усвоение другого в организме человека. Недостаток меди

прослеживается не только в волосах населения, а и в ее отсутствии в ногтях всех возрастных групп. Снижение концентрации цинка и меди в биосубстратах может быть предпосылкой возникновения иммунодефицитных, обострения кожных и аллергических заболеваний. Таким образом, общее поступление эссенциальных микроэлементов в основном зависит от полноценности питания. Содержание же токсичных элементов в ногтях выше, чем в волосах, особенно это имеет место по отношению к детям. Это можно объяснить несовершенным развитием нервной системы и других органов, превалирование ротового дыхания, повышенная активность на свежем воздухе, активный метаболизм и неразвитые до автоматизма санитарные привычки. Высокий уровень свинца в биосубстратах населения связан с повышением его

концентрации в атмосфере из-за содержания его в выхлопных газах автомобильного транспорта, работающего на этилированном бензине. Помимо этого, повышенное содержание свинца в ногтях детей можно объяснить сезонностью отбора проб, так как в весенне-летний период дети находятся чаще вне дошкольных учреждений, часто без присмотра взрослых и имеют повышенную вероятность контактов со свинцом, присутствующим в окружающей среде («руки – рот» – основной путь поступления). Увеличение содержания Cd в ногтях у взрослых также может быть связано с вредной привычкой – курением, а также периодом отпусков, загородного отдыха и наиболее вероятных контактов с почвой, питьевой водой, зачастую в местах с недостаточной степенью соблюдения санитарно-гигиенических норм водоснабжения.

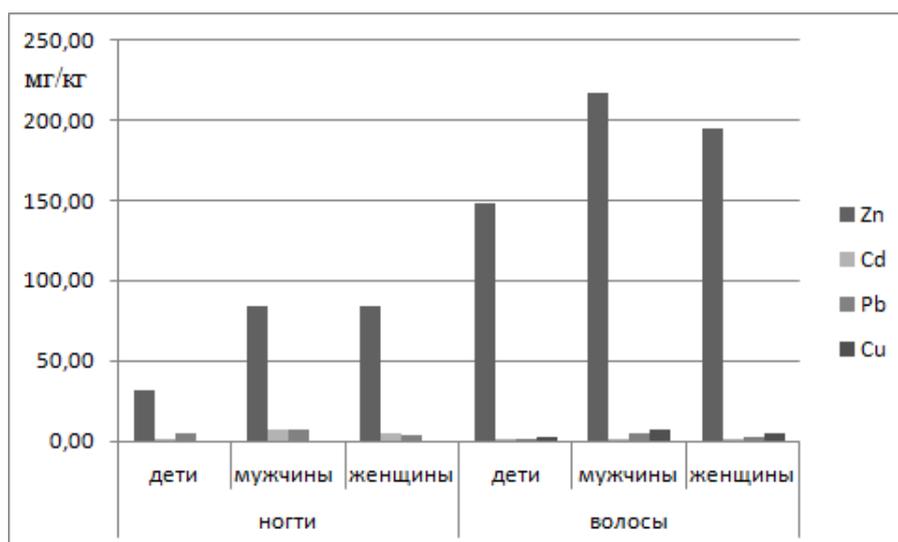


Рис. 3. Сравнение содержания тяжелых металлов в твердых биосредах жителей г. Чернигова.

Выводы

1. Показано, что метод инверсионной вольтамперометрии может быть успешно применен для определения цинка, кадмия, свинца и меди при их совместном присутствии в твердых биосубстратах людей, а именно в ногтях.

2. Установлено, что ни в одной из исследуемой категории жителей в ногтях не обнаружена медь. Для купирования дефицита меди можно использовать продукты питания богатые этим микроэлементом: шоколад,

какао, морепродукты, печень. Для коррекции дефицита цинка в организме, особенно у детей младшего дошкольного возраста, следует увеличить его поступление с пищей, богатой белком животного происхождения, и ограничить употребление пищевых продуктов, богатых фитином. Содержание токсичных элементов Pb и Cd в ногтях выше, чем в волосах, особенно это имеет место по отношению к детям. Это можно объяснить сезонностью отбора проб, так как в весенне-летний период дети и взрослые находятся чаще на природе и в местах с недостаточной

степенью соблюдения санитарно гигиенических норм водоснабжения.

3. Необходимо проводить дополнительные исследования объектов окружающей среды и продуктов питания, использовать метод определения микроэлементного статуса по химическому составу твердых биологических объектов (таких как волосы и ногти) для получения информации относительно влияния различных субпопуляционных факторов на содержания элементов в данных биологических образцах.

Список использованных источников

1. Савинов С.С. Новые возможности дуговой атомно-эмиссионной спектрометрии для прямого анализа жидких биопроб.: Дис. ... канд. хим. наук: 02.00.02, СПбГУ. Санкт-Петербург. 2014.
2. Скальный А.В., Рудаков И.А., Биоэлементы в медицине. М.: Оникс XI век, Мир. 2004. С. 272.
3. Abdulrahman F.I., Akan J.C., Chellube Z.M., Waziri M. Levels of Heavy Metals in Human Hair and Nail Samples from Maiduguri Metropolis, Borno State, Nigeria. *J. World Environment*. 2012, 2 (4), 81-89.
4. Андрусишина И.Н., Лампека Е.Г., Голуб И.А., Страуб О.В., Ермакова О.В. Спектральные методы оценки содержания макро- и микроэлементов в биологических средах человека в норме. *Микроэлементы в медицине: материалы III конференции «Биоэлементы»*. Оренбург. 2011. С. 35-42.
5. Осипова Е. А. Электроаналитические методы и проблема охраны окружающей среды. *Соросовский образовательный журнал*. 2001, 2, 47-54.
6. Носкова Г.Н., Заичко А.В., Иванова Е.Е. Минерализация пищевых продуктов. Томск: ТПУ, 2010. С. 30.
7. Степанова М.В. Содержание некоторых микроэлементов и токсичных тяжелых металлов в окружающей среде и биосубстратах детей-дошкольников на сельских и промышленных территориях (на примере Ярославской области): Автореф. дис. ... канд. био. наук: 03.02.08, ЯГУ им. П.Г. Демидова. Оренбург. 2012.
8. Купчик О.Ю. Визначення деяких важких металів у волоссі людини методом інверсійної вольтамперометрії. *Вісник ПНУ*. 2014, XVIII, 51-54.
9. Скальный А.В. Референтные значения концентрации химических элементов в волосах, полученные методом ИСП-АЭС (АНО Центр биотической медицины). *Микроэлементы в медицине*. 2003., 4(1), 55-56.

Статья поступила в редакцию: 11.09.2015.

THE CONTENTS OF SOME MICROELEMENTS IN BIOSUBSTRATES PEOPLE LIVING IN CHERNIGIV CITY

Kupchik E.Yu.

Potential contaminants that can enter the human body from the environment and food has studied in the work. The content of heavy metals such as zinc, cadmium, lead and copper nails defined by stripping voltammetry. Sample Preparation made oxidative mineralization nail nitric acid. It is shown that the method of stripping voltammetry can be successfully applied for the determination of zinc, cadmium, lead and copper in their joint presence in solid human biological media. It is found that all investigated samples revealed no copper and zinc predominates. The content of toxic elements lead and cadmium in the nails higher than in the hair, especially is the case in relation to children.