

Определение многоэлементного состава крови и волос тундровых ненцев методом рентгенофлуоресцентного анализа с использованием синхротронного излучения (РФА СИ)

Т. И. САВЧЕНКО, О. В. ЧАНКИНА, Г. А. КОВАЛЬСКАЯ, Л. П. ОСИПОВА*

*Институт химической кинетики и горения СО РАН
630090 Новосибирск, ул. Институтская, 3*

**Институт цитологии и генетики СО РАН
630090 Новосибирск, просп. Акад. Лаврентьева, 10*

АННОТАЦИЯ

Использован метод РФА СИ для определения многоэлементного состава крови и волос популяции тундровых ненцев. Измерены концентрации Са, Cu, Zn, Fe, Mn, Cr, Co, Mo, Rb, Se, Br, Ni, Sr, Y, W, Zr, As, Hg, Pb, Th, U. Обнаружены индивидуальные различия в составе крови и волос. Разработана методика подготовки образцов крови и волос для измерения элементного состава методом РФА СИ. Образцы крови готовили нанесением 20 мкл на подложку. Образцы волос (с наполнителем и без него) получены прессованием в форме таблеток диаметром 1 см и массой от 20 до 40 мг.

В последние годы в биологии человека важное место занимают вопросы воздействия на популяции экологических факторов. Как показывают итоги научного поиска последних лет, связующим звеном биогеохимических данных и результатов физиологических исследований может служить анализ микроэлементного состава крови и волос человека [1, 2].

Значение микроэлементов в жизнедеятельности человека весьма велико, так как они входят в состав ферментов, гормонов, витаминов, пигментов или активируют их в процессе обмена веществ [3, 4]. Микроэлементы поступают в организм человека в основном опосредованно, по биогеохимической пищевой цепи [2, 5, 6].

Микроэлементный состав различных биосубстратов (кровь, волосы, моча, ногти, зубы) во многом отражает суммарное поступление загрязняющих веществ в организм [7].

Следует отметить, что в последнее время широкое применение в качестве тест-системы

получили волосы. Считается, что элементный состав волос лучше других биосред отражает воздействие на человека повышенных концентраций комплекса микроэлементов (особенно тяжелых металлов) в условиях техногенного загрязнения [8–10]. Кроме того, взятие волос для анализа не связано с травматизацией и исключает опасность распространения инфекционных заболеваний. Сбор их прост, они легко транспортируются и хранятся, поэтому пригодны для массовых исследований [11, 12].

Для определения микроэлементного состава крови, ее составляющих и волос человека используется большой ассортимент современных аналитических методов. Особое место в этих анализах принадлежит ядерно-физическим методам, таким как нейтронно-активационный [13] и рентгенофлуоресцентный (РФА) [14, 15].

Одним из перспективных ядерно-физических аналитических методов является метод

рентгенофлуоресцентного анализа с использованием синхротронного излучения (РФА СИ) [16]. Этот метод благодаря высокой интенсивности синхротронного излучения позволяет определять следовые концентрации в образцах с небольшой массой и без их разрушения.

В настоящей работе представлены результаты исследований по определению многоэлементного состава эритроцитарной массы крови и волос тундровых ненцев методом РФА СИ.

Популяция тундровых ненцев, проживающая в пос. Самбург Пуровского р-на Тюменской обл., представляет собой этнически однородную группу. По антропологическим признакам они являются представителями уральской расы, в которой присутствуют как монголоидные, так и европеоидные черты. По образу жизни и демографическим параметрам популяция тундровых ненцев существенно приближена к “природному” типу популяций человека. Территория проживания тундровых ненцев в настоящее время является зоной неблагоприятного техногенного воздействия в связи с интенсивным нефтегазовым освоением этого района и ряда других негативных экологических факторов. Ранее было показано, что в пос. Самбург 78 % элементов, содержащихся в атмосферных аэрозолях, связаны с антропогенным фактором [17]. Основанием для экологических и медицинских исследований стала также информация о том, что в регионе резко увеличилось число заболеваний и смертей, что ранее не было свойственно коренным жителям.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Кровь и волосы собраны в экспедиции 1996 г. В выборку вошло население обоого пола, возрастной интервал – 16–61 год. Общее количество образцов по крови – 47, для волос – 32.

Процесс приготовления образцов играет важную роль в информативности аналитических данных.

Кровь забирали непосредственно в стойбищах и бригадах и доставляли вертолетом через 6 ч после взятия в полевую лабораторию.

Образец эритроцитарной массы, полученный после центрифугирования и отделения плазмы и лимфоцитарного слоя, готовился нанесением 20 мкл на ватмановский фильтр

(Whatman grade 41 N3543) площадью 1 см². Пробы высушивали на воздухе и помещали между двумя слоями фторопластовой пленки (d = 0,005 мм), натянутой в тефлоновых паяльцах.

Волосы взяты из разных мест скальпа головы и нарезаны мелко ножницами, сделанными из нержавеющей стали. Образцы волос промывали абсолютным ацетоном для удаления внешних загрязнений (жира, пыли и пр.), дистиллированной водой, затем снова ацетоном. Волосы были высушены между двумя чистыми бумажными фильтрами, а затем спрессованы в таблетки диаметром 1 см. С этой целью использовался гидравлический пресс с пресс-формой из нержавеющей стали с давлением 120 кг/см². Масса таблеток – от 20 до 40 мг.

Другой вариант приготовления образцов волос заключался в использовании наполнителя, в качестве которого применялся мелкодисперсный полиэтилен. В этом случае образец получался более однородным и надежным при хранении. Навеску волос смешивали в агатовой ступке с навеской порошка полиэтилена с последующим прессованием в таблетку. На примере волос одного человека выяснено влияние массы навески волос в диапазоне от 10 до 30 мг и количества наполнителя на результаты измерения. Наиболее стабильный результат получен при использовании 10 мг волос и 10 мг полиэтилена. Наполнитель проверен на отсутствие микроэлементов. Полученные таблетки фиксировались в центре тефлонового кольца между двумя слоями фторопластовой пленки.

Все измерения элементного состава образцов эритроцитарной массы крови и волос проводили методом РФА СИ на станции элементного анализа Института ядерной физики СО РАН (накопитель ВЭПП-3) [16].

Для количественной интерпретации результатов измерения интенсивности линий характеристического спектра биологических образцов использовался единый тонкий стандарт, позволяющий одновременно измерять концентрации многих химических элементов.

Образцы крови можно считать тонкими, т. е. пренебречь поглощением первичного и флуоресцентного излучения в образце, поскольку масса его не превышает 15 мг/см². Это позволяет при количественной интерпретации полученных результатов для образцов крови приме-

нять методику, используемую в многоэлементном анализе атмосферных аэрозолей [18].

Для образцов волос (которые нельзя считать тонкими) использовался тот же единый тонкий стандарт с последующим учетом перепоглощения характеристического излучения [19].

Для расчета перепоглощения использовался базовый состав волос, описанный в работе [20]. Учитывались элементы, составляющие более 3 % от массы образца. Заметное поглощение флуоресцентного излучения происходит только в базовых элементах, концентрация которых стабильна. При расчете приняты следующие значения концентраций базовых элементов, %: С – 48, О – 30, N – 14, Н – 8. Вариации

3 % от принятого состава вносят незначительную погрешность.

Измерение предела обнаружения для тонких образцов крови проводилось при 20 параллельных измерениях флуктуации интенсивности фона в различных участках спектра для одного образца [21].

Аналогичный подход был применен для определения пределов обнаружения в случае таблеток волос. Оценки показали, что измеренные значения концентраций элементов в образцах волос лежат выше предела обнаружения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения микроэлементного состава эритроцитарной массы крови и волос представлены в таблицах 1 и 2.

В таблицах приведены для каждого элемента среднее геометрическое значение концентрации – x_i , стандартное отклонение среднего геометрического – g_i , число измерений n_i , по которым проведено усреднение, диапазон концентраций x_{\min} и x_{\max} и – предел обнаружения.

Методом РФА СИ достоверно определено количество элементов в эритроцитарной массе крови – 23, волосах – 21.

Т а б л и ц а 1
Элементный анализ эритроцитарной массы тундровых нещцев, мг/л

	Мужчины					Женщины					
	x_i	g_i	n_i	x_{\min}	x_{\max}	x_i	g_i	n_i	x_{\min}	x_{\max}	
Ca	131	2,7	14	23	578	142	2	23	58	585	15
Cu	4	2,2	16	0,6	9	3	2,5	25	0,5	13	0,3
Zn	17	1,6	19	7	35	14	1,5	28	8	50	0,3
Fe	993	1,5	19	504	1760	644	1,8	28	84	2250	0,7
Mn	43	2,8	19	5	157	23	3,1	28	3	165	1
Cr	48	2	10	15	144	25	2,7	14	6	109	2
Co	7	2,3	13	2	31	4	2	16	1	32	0,5
Mo	0,6	1,5	11	0,2	1	0,4	2,2	23	0,1	1,4	
Rb	8	2,5	19	0,6	40	7	2	28	2	25	0,1
Se	0,5	1,9	8	0,2	2	0,5	1,8	16	0,1	1,4	0,2
Br	6	2,4	18	0,7	18	5	2,3	28	0,5	20	0,1
Ni						1	2,4	4	0,4	4	0,4
Sr	0,4	1,9	7	0,2	1,3	0,3	2,1	24	0,1	1,5	0,1
Y	0,6	2,2	9	0,07	1,4	0,4	2	13	0,2	2	0,1
W	0,8	1,6	4	0,5	1,3	0,8	1,9	3	0,3	1,4	
Zr	0,2	2,6	8	0,05	0,9	0,3	2	16	0,1	0,7	0,09
As	2,5	2,6	9	0,4	9	2	2,3	9	0,3	5	0,2
Hg	0,9	2,4	10	0,1	3	0,9	2,1	9	0,4	3	
Pb	1,6	3,8	7	0,1	4,2	3	3	20	0,2	21	
Th	0,7	2,5	7	0,2	3	0,3	2,2	16	0,1	1,5	
U	0,4	2,7	6	0,1	1,5	0,3	3	13	0,06	2	
Ga	1	2,4	2	0,5	3	0,8	3,2	4	0,3	6	0,2
Ge	2	1,2	4	2	3	1,2	2,2	14	0,4	3	0,2

Т а б л и ц а 2
Элементный анализ волос тундровых ненцев, мкг/г

	Мужчины					Женщины				
	$\langle x_i \rangle$	σ_{gi}	n_i	x_{imin}	x_{imax}	$\langle x_i \rangle$	σ_{gi}	n_i	x_{imin}	x_{imax}
Ca	415	2,5	16	100	1600	830	1,7	16	374	3000
Cu	20	1,5	16	9	47	28	1,7	16	13	81
Zn	90	2	16	21	358	195	1,5	16	107	430
Fe	100	1,7	16	35	240	202	2,5	16	46	1200
Mn	20	1,9	10	8	56	62	1,8	15	25	219
Cr	36	1,6	7	17	61	45	1,4	6	30	90
Co	6	1,8	3	3	9	8	1,8	6	4	25
Mo	0,4	1,6	9	0,2	0,8	0,8	1,8	7	0,3	1,8
Rb	2	2	13	0,6	8	4	2	14	0,7	10
Se	0,5	2,6	8	0,1	2	0,6	1,7	3	0,3	1,1
Br	11	2,4	16	2	55	12	2,7	16	1,3	68
Ni	5	2	11	1	22	6	2,4	8	1,6	17
Sr	1,2	3,3	15	0,4	40	4	2,4	16	0,5	16
Y	0,6	3,6	3	0,1	1,5	0,9	2	11	0,4	3
W	3	2,6	8	0,6	12	4	2	11	1,5	13
Zr	2	3,8	12	0,1	38	3	4	14	0,7	58
As	4	2	6	2	15	6	2,3	10	1,6	24
Hg	2	3	12	0,2	14	2	2,4	8	0,5	9
Pb	11	3,1	13	1,3	82	6	2,5	11	1,3	23
Th	0,5	3,3	9	0,1	2	0,8	2,3	9	0,3	4
U	0,5	3,2	3	0,1	2	0,7	1,2	4	0,5	0,8

Данный метод дает возможность зафиксировать индивидуальные отличия в микроэлементном составе волос и крови человека.

Вариации концентраций одних и тех же элементов значительны и отличаются на порядок.

Сравнительный анализ микроэлементного состава волос и эритроцитарной массы тундровых ненцев показывает, что концентрации Ca, Zn, Cu, Ni, Br, W, As, Hg, Pb, Zr, Sr значительно выше в волосах. В эритроцитарной массе отмечена высокая концентрация Fe и Rb, а также обнаружено присутствие таких элементов, как Ge и Ga.

На рисунках 1 и 2 показано сравнение концентраций элементов для мужчин и женщин в эритроцитарной массе крови и в образцах волос.

Как видно из рис. 1, для образцов эритроцитарной массы крови мужчин концентрации почти всех измеренных элементов выше, чем в крови женщин. Исключение составляют концентрации Pb (ниже у мужчин), Hg, Zr (практически сравнимы) и Ni (не обнаружен у мужчин).

Сравнение микроэлементного состава волос женщин и мужчин (см. рис. 2) показывает повышение концентраций почти всех элементов в

образцах волос женщин. Следует отметить, что уровень концентраций Pb у мужчин выше, а Hg сравним.

Высокая концентрация свинца в волосах ненцев мужчин по сравнению с таковой у женщин, возможно, коррелирует с меньшей концентрацией цинка. Известно, что при концентрировании токсических элементов происходит нарушение микроэлементного баланса за счет снижения эссенциальных элементов, и в первую очередь цинка, играющего важную роль в поддержании иммунного статуса организма [8].

Содержание основных биогенных элементов в образцах волос мужчин и женщин изменяется в следующей последовательности: Ca > Fe > Zn > Mn > Cr > Cu, а для образцов эритроцитарной массы – Fe > Ca > Cr > Mn > Zn.

Сравнение микроэлементного состава волос тундровых ненцев с его средним значением по регионам России [8] показывает повышение концентраций таких элементов, как As, Pb, Hg, Cr, Br.

В табл. 3 представлены результаты факторного анализа. Следует отметить имеющиеся различия в составе факторов. Как видно из этой таблицы, для волос мужчин наиболее зна-

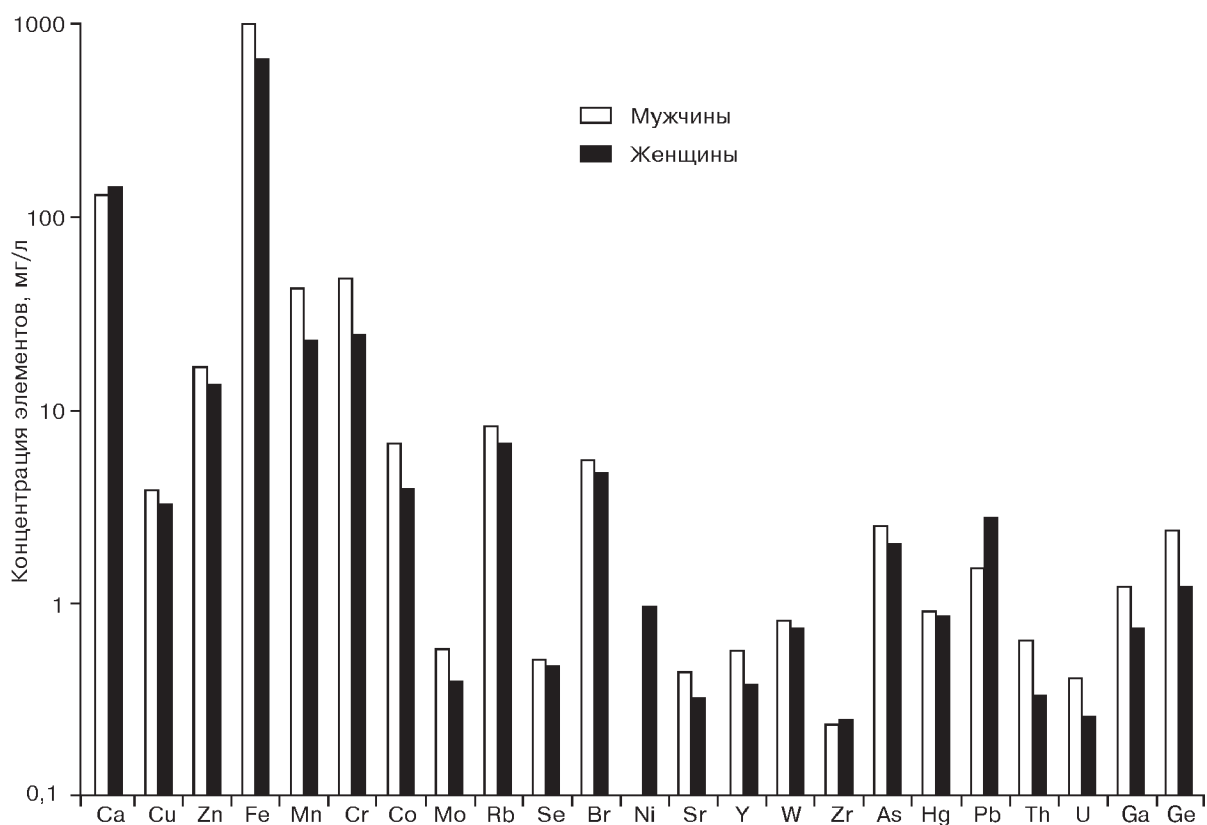


Рис. 1. Сравнение элементного состава эритроцитарной массы крови мужчин и женщин

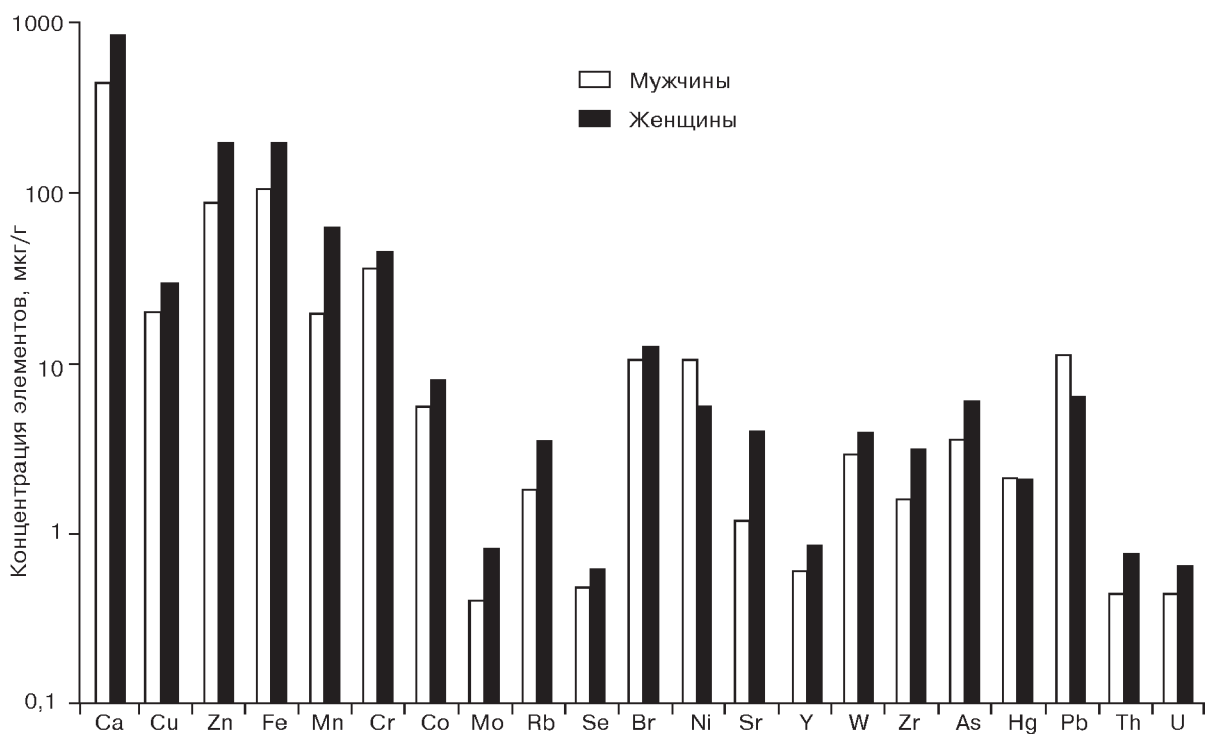


Рис. 2. Сравнение элементного состава волос мужчин и женщин

Результаты факторного анализа микроэлементного состава волос и эритроцитарной массы крови

Пол	Факторы							
	1		2		3		4	
	Элемент	Стат. вес	Элемент	Стат. вес	Элемент	Стат. вес	Элемент	Стат. вес
			<i>Волосы</i>					
Мужчины	Cu, Zn, Br, Sr, Rb	0,41	Pb, Zr	0,21	Ca, Fe	0,26		
Женщины	Fe, Y, Rb	0,31	-Ca, Cu, Pb, Zr	0,27	Zn, Sr	0,16	Mn	0,15
			<i>Кровь</i>					
Мужчины	Fe, Cu, Zn, Br, Rb	0,48	Ca, Co	0,32				
Женщины	Mn, Cu, Br, Rb, Sr	0,46	Ca, -Mo	0,18	Zn, Pb	0,26		

чимым в этой серии элементов является первый фактор, в котором находятся Cu, Zn, Br, Sr, Rb. Второй фактор связан с содержанием Zr и Pb, третий – с Ca и Fe. В волосах женщин число факторов увеличилось. В первый фактор входят Fe, Y, Rb. Второй фактор объединяет Cu, Pb, Zr и Ca. Третий включает – Zn и Sr. Четвертый фактор содержит Mn.

При рассмотрении результатов факторного анализа эритроцитарной массы крови видно, что число факторов уменьшается, особенно для мужчин. В крови мужчин и женщин первый фактор объединяет наибольшее количество элементов (до пяти), причем Cu, Br, Rb являются общими как для женщин, так и для мужчин. Во второй фактор входят по два элемента, из которых Ca присутствует и у мужчин, и у женщин.

Сравнение результатов факторного анализа по элементному составу волос и эритроцитарной массы крови показало, что в первый фактор входят Cu, Zn, Br, Rb для мужчин обоих субстратов, для женщин общим является Rb. Следует отметить, что в третьем факторе для женщин общим элементом как для волос, так и для крови является Zn.

ВЫВОДЫ

1. Показана возможность применения РФА СИ для одновременного достоверного определения в эритроцитарной массе крови до 23 элементов, а для волос – до 21 элемента.

Измерены концентрации следующих элементов: Ca, Cu, Zn, Fe, Mn, Cr, Co, Mo, Rb, Se, Br, Ni, Sr, Y, W, Zr, As, Hg, Pb, Th, U, Ga, Ge.

2. Разработана методика подготовки образцов эритроцитарной массы и волос для измерения методом РФА СИ. Этот метод позволяет анализировать весьма малые навески исследуемого материала, для крови – 20 мкл, для волос – от 10 до 30 мг. Проведенные исследования микроэлементного состава волос и крови тундровых ненцев могут служить основой для изучения экологических связей человеческой популяции с геохимической средой их обитания.

Авторы благодарны проф. К. П. Куценогому за полезные обсуждения.

Работа частично поддержана грантом РФФИ 98-03-32467а.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Кист, Феноменология биогеохимии и бионеорганической химии, Ташкент, ФАН, 1987, 276.
2. А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риш, Л. С. Строчкова, Микроэлементозы человека, М., Медицина, 1991, 496.
3. Л. Р. Ноздрихина, Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека, М., Медицина, 1977, 184.
4. М. Г. Коломийцева, Р. Д. Габович, Микроэлементы в медицине, М., Медицина, 1970.
5. В. В. Ковальский, Геохимическая среда и жизнь, М., Наука, 1982, 76.
6. В. В. Добровольский, География микроэлементов. Глобальное рассеяние, М., Мысль, 1983, 272.
7. С. G. Elinder, L. Friberg et al., Biological Monitoring of Metals, Geneva, WHO, 1994, 80.
8. Б. А. Ревич, Активационный анализ в охране окружающей среды (материалы 6-го рабочего совещания, 15–18 сентября 1992 г. в г. Дубне), Дубна, 1993, 486–518.
9. А. В. Скальный, А. В. Есенин, *Токсикол. вестн.*, 1996, 6, 29–39.
10. V. Bencko, *Toxicology*, 1995, 101, 29–39.
11. В. А. Бацевич, О. В. Ясина, Антропология – медицина, М., Изд-во МГУ, 1989, 198–220.
12. L. I. Zhuk, A. A. Kist, *J. Radioanalyt. Nucl. Chem. Artcls*, 1995, **195**: 1, 75–81.

13. Активационный анализ в охране окружающей среды (материалы 6-го рабочего совещания, 15–18 сентября 1992 г. в г. Дубне), Дубна, 1993, 520.
14. Ядерно-физические методы элементного анализа в биологии и медицине (Тез. докл. на 1-й Всесоюзн. конф., май 1978 г.), МЗ СССР, АМН СССР, Обнинск, 1980, 120.
15. В. Ф. Волков, И. Т. Аржанова, Е. И. Семенова, *Завод. лаб.*, 1994, **60**: 12, 3–25.
16. В. Б. Барышев, Ю. П. Колмагоров, Г. Н. Кулипанов, А. Н. Скринский, *Журн. аналит. хим.*, 1986, 31, 389–401.
17. К. П. Куценогий, Г. А. Ковальская, А. И. Смирнова и др., *Оптика атмосферы и океана*, 1998, **11**: 6, 625–631.
18. К. П. Куценогий, Г. А. Ковальская, А. И. Смирнова и др., Там же, 1997, **10**: 7, 820–821.
19. Г. А. Ковальская, Тез. докл. IV Заседания Рабочей группы проекта "Аэрозоли Сибири", 25–28 ноября 1997, Томск, 86–87.
20. Человек. Медико-биологические данные (Публикация № 23 Международной комиссии по радиологической защите), М., Медицина, 1977, 494.
21. Г. А. Ковальская, Тез. докл. На II Международном совещании "Геохимия биосферы", Новороссийск, Россия, 18 – 21 мая 1999, 145 – 146.

Assay of Multielemental Blood and Hair Composition of Tundra Nenets by Means of X-ray-fluorescence Analysis Using Synchronous Irradiation (RFASI)

T. I. SAVCHENKO, O. V. CHANKINA, G. A. KOVALSKAYA, L. P. OSIPOVA

RFA SI method was used for assay of multielemental blood and hair composition in a population of Tundra Nenets. Concentrations of Ca, Cu, Zn, Fe, Mn, Cr, Co, Mo, Rb, Se, Br, Ni, Sr, Y, W, Zr, As, Hg, Pb, Th and U were measured. Individual variations in blood and hair compositions have been found. A technique of blood and hair sample preparation for elemental composition assay by means of RFA SI has been developed. Blood samples were prepared by deposition of 20 mcl on a base. Hair samples (with and without a filler) were obtained by pressing in the form of tablets with a diameter of 1 cm and a mass of 20 to 40 g.