

Stanovenie ťažkých kovov v biologickom materiáli atómovou absorpčnou spektrometriou po extrakčnom skoncentrovaní

MÁRIA ŠPANKOVÁ — LÝDIA DUDOVÁ — LÍVIA SMIRNOVÁ

Súhrn. Metóda atómovej absorpčnej spektrometrie s plameňom ako atomizačným prostredím sa v práci použila na stanovenie stopových koncentrácií Cd, Pb a Cu po predchádzajúcom skoncentrovaní kovov extrakčnou metódou. Priame nasávanie extraktu β -diketochelátov kovov v xyléne do plameňa umožňuje dosiahnuť medzu stanovenia porovnateľnú s medzou stanovenia technikou atómovej absorpčnej spektrometrie s elektrotermickou atomizáciou.

Metóda atómovej absorpčnej spektrometrie (AAS) s použitím plameňa ako atomizačného prostredia sa uplatňuje najmä pri stanovení prvkov zastúpených v analyzovateľných vzorkách ako nízkoobsahové zložky. Stopové koncentrácie prvkov umožňuje stanoviť metóda AAS s elektrotermickou atomizáciou (ETA) z povrchu grafitu, volfrámu, prípadne tantalu. Prístroje tohto typu sú nákladnejšie ako prístroje s plameňovou atomizáciou a ich použitie v bežných analytických laboratóriách je ojedinelé.

Kombinácia plameňovej AAS s extrakčnou metódou skoncentrovania stanovovaných stopových množstiev kovov úspešne nahrádza nákladnú AAS a ETA a nachádza široké uplatnenie v praxi. Voľba vhodného extrakčného systému — chelátotvorného činidla a organického rozpúšťadla sú pri tom rozhodujúce.

V práci sa uvádza aplikácia fluórovaného β -diketónu, 1,1,1-trifluór-5-metylhexán-2,4-diónu, triviálne nazvaného trifluóracetylizobutyrylmetán (TABM) na extrakciu príslušných chelátov Cd, Pb a Cu do *p*-xylénu v prítomnosti tri-*n*-oktylfosfínoxidu (TOPO). Výsledky stanovenia stôp uvedených ťažkých kovov v potravinárskych živočíšnych surovinách vypracovanou extrakčne — AAS metódou porovnávajú sa s výsledkami získanými metódou AAS s ETA.

RNDr. Mária Španková, CSc., RNDr. Lýdia Dudová, RNDr. Lívia Smirnová, CSc., Prírodovedecká fakulta UK, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava.

Experimentálna časť

Vzorky. Bravčová svalovina, pečeň, obličky, pľúca, slezina a vnútorný tuk. Vzorky sa odoberali z bitúniku Bratislavského mäsového priemyslu, n. p., Mäsokombinát Rača, z jatočnej rozrábky ihneď po porážke a vytriedení mäsa a vnútorností. Priemerná vzorka jednotlivých tkanív sa odoberala zo 6—8 ošipaných. Laboratórna vzorka sa upravovala pravidlom krížového oddeľovania do priemernej hmotnosti 500 g. Po očistení od blán a šliach sa vzorky homogenizovali mletím a mixovaním.

Vzorky hmotnosti 25,00 g po vysušení pri teplote 105 °C do konštantnej hmotnosti (4—8 h) sa spopolňovali v miskách z platiny alebo porcelánu v muflovej peci pri teplote 450 ± 10 °C v prítomnosti 1 g MgO ako oxidačnej prísady.

Chemikálie. 1,1,1-trifluór-5-metylhexán-2,4-dión sa pripravil Claisenovou kondenzáciou z metylesteru kyseliny trifluóroctovej a metylizopropylketónu a bol opísaný v predchádzajúcej práci [1]. Teplota varu čistého produktu bola 135 °C pri atmosferickom tlaku. Na extrakcie sa použil roztok koncentrácie $c(\text{TABM}) = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$ v *p*-xyléne.

p-Xylén (t. v. frakcie 138 °C) (Slovnaft, Bratislava), tri-*n*-oktylfosfínoxid (TOPO) čistoty suprapur (Merek, NSR), štandardné roztoky Cd, Pb a Cu sa pripravili podľa návodu fy Perkin-Elmer [2] koncentrácie $c(\text{kov}) = 1000 \mu\text{g.ml}^{-1}$. Príslušné zriedené roztoky kalibračných štandardov sa pripravovali denne čerstvé riedením redestilovanou vodou.

Štandardné roztoky chelátov Cd, Pb a Cu s TABM sa pripravili extrakčnou metódou podľa [3] z roztoku príslušného kovu v tlmivom roztoku o hodnote pH pre maximálnu extrakciu chelátu 1,1,1-trifluór-5-metylhexán-2,4-diónom TOPO v *p*-xyléne. Pracovné štandardné roztoky chelátov sa pripravili denne čerstvé riedením zásobných roztokov chelátov *p*-xylénom. Ostatné chemikálie boli čistoty p. a., voda redestilovaná.

Prístroje a zariadenia. Atómový absorpčný spektrometer fy Perkin-Elmer typ 306 s deutériovým korektorom pozadia, digitálnym údajom integrovanej absorpcie, plameňom acetylén—vzduch. Zdroje: Cd, Pb bezelektrodové výbojky EDL Perkin-Elmer, Cu výbojka s dutou katódou Perkin-Elmer.

Sušiareň, elektrická muflová pec s rýchlosťou výstupu teploty 10 °C min^{-1} , mixér, mechanická trepačka T 22 (Autocentrum, Praha).

pH-meter PHM 64, Radiometer, so sklenou elektródou typ G 202 a s kalomelovou elektródou typ K 401.

Porcelánové alebo platinové misky, oddeľovacie lieviky objemu 50 ml.

Postup práce. Z roztoku popola zmineralizovanej vzorky sa v minimálnom množstve kyseliny, $c(\text{HNO}_3) = 2 \text{ mol.l}^{-1}$, po úprave pH roztoku pre tvorbu a extrakciu chelátov a doplnení na definovaný objem extrahovali stanovované

zložky do minimálneho objemu *p*-xylénu. Na úpravu roztokov vzoriek o pH 6—6,5 sa použil tlmivý roztok KH_2PO_4 , NaOH koncentrácie $c = 10^{-1} \text{ mol.l}^{-1}$, objem sa doplnil na výslednú iónovú silu $I = 0,1$ roztokom NaClO_4 .

Podmienky pre synergickú extrakciu chelátov Cd, Pb a Cu sú uvedené v inej práci [4], pri štúdiu priebehu extrakcií. V tejto práci sa použili činidlá TABM : TOPO v pomere 1 : 2 v *p*-xyléne, keď $c(\text{TABM}) = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$, $c(\text{TOPO}) = 5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$. Na extrakciu sa použili oddeľovacie lieviky, trepanie fáz 15 min pri miernom chode trepačky.

Po rozdelení vodnej a xylénovej fázy sa táto použila priamo na stanovenie koncentrácie kovov plameňovou technikou AAS.

Podmienky pre meranie absorbancie pri nasávaní xylénového extraktu do plameňa uvádza tabuľka 1.

Tabuľka 1. Podmienky merania atómovej absorpcie plameňovou technikou
Table 1. The conditions of measuring the atomic absorption by flame technique

Kov ¹	Typ lampy ²	Vlnová dĺžka ³ [nm]	Štrbina ⁴ [nm]	Žhavenie ⁵	Acetylén—vzduch ⁶ [l.min ⁻¹]	
Cd	EDL	228.8	0.7	5 W	2.5	13.5
Pb	EDL	283.3	0.7	10 W	2.5	13.5
Cu	HCL	324.7	0.7	8 mA	2.5	13.5

¹Metal; ²Type of lamp; ³Wave-length; ⁴Slot; ⁵Heating; ⁶Acetylene—air.

Výsledky a diskusia

Tabuľka 2 zhrňa optimálne podmienky predúpravy vzoriek (množstvá potrebných návažkov homogenizovaných priemerných laboratórnych vzoriek z jednotlivých tkanív vzhľadom na použitú metodiku stanovenia a koncentraciu Cd, Pb a Cu) a čas potrebný na úpravu jednotlivých druhov tkanív na ich stanovenie extrakčne — AAS metódou.

Množstvo MgO pridané k sušine vzorky na zlepšenie oxidácie sa pohybovalo okolo 0,5 až 0,8 g a umožnilo urýchliť spopolňovanie vzoriek.

Vzorky sa mineralizovali v miskách z porcelánu alebo platiny. Zo stránky chemickej odolnosti a vlastností povrchov stien boli misky z porcelánu s glazúrou vyhovujúce, straty boli nepodstatné, zadržanie zvyškov z predchádzajúcich stanovení bolo nevýznamné. Misky z porcelánu však nevyhoveli zo stránky mechanických vlastností; napriek starostlivej manipulácii — postupné zmeny, opatrná práca — dochádzalo k častému praskaniu misiek.

Misky z platiny pri dodržaní pracovného postupu (spaľovanie v prítomnosti

Tabuľka 2. Úprava vzoriek suchou mineralizáciou
Table 2. Adjustment of samples by dry mineralization

Vzorka ¹	Návažok mokrej vzorky ² [g]	Sušina ³ 105 °C, 2 h [g]	Popol ⁴ 450 °C, MgO [g]	Čas mineralizá- cie ⁵ [h]
Pečeň ⁶	10	3,707	0,661	20
Obličky ⁷	10	5,585	0,573	20
Plúca ⁸	25	5,782	1,453	16
Svalovina ⁹	25	8,116	1,577	32
Vnútorný tuk ¹⁰	25	—	0,030	8
Slezina ¹¹	25	8,562	1,463	40

¹Sample; ²Weighing of wet sample; ³Dried matter; ⁴Ashes; ⁵Mineralization time; ⁶Liver; ⁷Kidneys; ⁸Lungs; ⁹Muscle fibre; ¹⁰Inner fat; ¹¹Spleen.

oxidačnej prísady, dokonalé vyleštenie stien pred použitím) sa osvedčili pri mineralizácii vzoriek biologického materiálu. Oxidačná prísada, ktorá dovoľovala spopolňovať pri relatívnej nízkej teplote (450 ± 10 °C), zabránila porušeniu stien misiek, ku ktorému dochádza pri žíhaní látok s relatívne vysokým obsahom uhlíka a iných prvkov, ako napr. síry, fosforu a bóru pri vyšších teplotách [5]. Pri použitých podmienkach mineralizácie študovaných živočíšnych tkanív boli straty Pb nevýznamné, hoci je známe, že pri žíhaní vzoriek obsahujúcich Fe, Pb, prípadne Zn a Hg v platine môže dôjsť k tvorbe zliatin s Pt s nízkymi teplotami tavenia. Dodržanie teploty spopolnenia je teda významné pre získanie reprodukovateľných výsledkov stanovenia najmä olova.

Meranie signálov atómovej absorpcie kovov, viazaných na trifluóracetylzobutyrylmetán, a nasávanie roztoku chelátov v organickom rozpúšťadle po extrakcii priamo do plameňa zvýšilo citlivosť stanovenia Cd, Pb a Cu metódou AAS fyzikálnym ovplyvnením nasávania a odparovania roztoku, naľmá však zvýšením populácie voľných atómov v plameni vďaka termickej stabilite a prchavosti fluórovaných β -diketochelátov kovov, čo sme potvrdili v inej práci [6]. Ďalšie zvýšenie citlivosti stanovenia sa dosiahlo znížením obemu organického roztoku, t. j. znížením obemu analyzovaného roztoku extrakciou chelátov do menšieho obemu organického roztoku. Aplikácia extrakčného systému TABM—TOPO—*p*-xylén [4] umožnila stanoviť plameňovou technikou metódy AAS stopové obsahy ťažkých kovov v živočíšnych potravinárskych surovinách.

Výsledky stanovenia Cd, Pb a Cu v sérii reprezentatívnych vzoriek bravčovej pečene, obličiek, pľúc, svaloviny, vnútorného tuku a sleziny sú v tabuľkách 3—5. Uvádzajú sa tu z hľadiska presnosti výsledkov optimálne návažky pre jednotlivé tkanivá, resp. potrebné násobky skoncentrovania vzoriek pre jednotlivé stopové kovy. Správnosť výsledkov sa pre nedostupnosť štandardných biologických referentných materiálov hodnotila súbežným stanovením metódou AAS s elektrotermickou atomizáciou (HGA 72, Perkin-Elmer), po

Tabuľka 3. Kadmium v biologických vzorkách
Table 3. Cadmium in biological samples

Vzorka ¹	Návažok ² [g]	Skoncen- trovanie násobok ³	AAS-plameň po extrakcii ⁴ [mg.kg ⁻¹] $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	AAS-ETA priamo ⁵ [mg.kg ⁻¹] $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Pečeň ⁶	25	3—5	0,014 ± 0,003	0,013 ± 0,02
Obličky ⁷	10	5	0,044 ± 0,004	0,045 ± 0,06
Plúca ⁸	25	5	0,018 ± 0,010	0,014 ± 0,06
Svalovina ⁹	25	6	0,012 ± 0,003	0,011 ± 0,07
Vnúťorný tuk ¹⁰	25	10	0,004 ± 0,0001	0,005 ± 0,0002
Slezina ¹¹	25	5	0,015 ± 0,008	0,012 ± 0,002

¹Sample; ²Weighing of sample; ³Concentration, multiple; ⁴AAS-flame after extraction; ⁵AAS-ETA directly; ⁶Liver; ⁷Kidneys; ⁸Lungs; ⁹Muscle fibre; ¹⁰Inner fat; ¹¹Spleen.

Tabuľka 4. Olovo v biologických vzorkách
Table 4. Lead in biological samples

Vzorka ¹	Návažok ² [g]	Skoncen- trovanie násobok ³	AAS-plameň po extrakcii ⁴ [mg.kg ⁻¹] $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	AAS-ETA priamo ⁵ [mg.kg ⁻¹] $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Pečeň ⁶	25	4	0,40 ± 0,06	0,30 ± 0,08
Obličky ⁷	25	4	0,33 ± 0,07	0,27 ± 0,06
Plúca ⁸	25	4	0,35 ± 0,10	0,40 ± 0,08
Svalovina ⁹	25	4	0,34 ± 0,06	0,29 ± 0,08
Vnúťorný tuk ¹⁰	25	10	0,06 ± 0,03	0,10 ± 0,02
Slezina ¹¹	25	8	0,14 ± 0,04	0,13 ± 0,04

For 1—11 see Table 3.

Tabuľka 5. Meď v biologických vzorkách
Table 5. Copper in biological samples

Vzorka ¹	Návažok ² [g]	Skoncen- trovanie násobok ³	AAS-plameň ⁴ [mg.kg ⁻¹] $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	AAS-ETA ⁵ [mg.kg ⁻¹] $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Pečeň ⁶	5	0	5,12 ± 0,10	4,40 ± 0,5
Obličky ⁷	5	0	4,33 ± 0,09	4,20 ± 0,4
Plúca ⁸	10	0	1,14 ± 0,08	1,33 ± 0,04
Svalovina ⁹	20	0	0,59 ± 0,08	0,52 ± 0,04
Vnúťorný tuk ¹⁰	25	2	0,16 ± 0,03	0,13 ± 0,02
Slezina ¹¹	10	0	0,85 ± 0,09	0,63 ± 0,03

For 1—11 see Table 3.

samostatnej mineralizácii, priamym meraním roztokov popolov za bežných podmienok odporúčaných výrobcom prístroja [7].

Výsledky sa vypočítali z 5 samostatne analyzovaných vzoriek daného tkaniva, so smerodajnou odchýlkou priemeru. Podmienky merania signálov z prostredia organického extraktu uvádza tabuľka 1, podmienky úpravy vzoriek tabuľka 2.

Vzhľadom na obsah Cd, Pb v analyzovaných materiáloch, ktoré boli nekontaminované potravinárske suroviny, bolo potrebné použiť na ich stanovenie vo všetkých tkanivách určité skoncentrovanie. Na stanovenie Cu — s výnimkou vnútorného tuku — zvýšená citlivosť merania signálu atomizácie Cu, (viazanej na fluórovany diketón a nasávanie xylénového roztoku chelátu do plameňa) úplne vyhovela pre ostatné tkanivá a nebolo potrebné roztoky koncentrovať.

Záver

Dobrá zhoda výsledkov analýz, uskutočnených vypracovaným extrakčne — AAS postupom, s výsledkami dosiahnutými technikou AAS s elektrotermickou atomizáciou z grafitovej pece potvrdila vhodnosť vypracovaného postupu na stanovenie stopových množstiev Cd, Pb a Cu v bežnom laboratóriu, vybavenom dostupnou technikou plameňovej AAS (napr. fy Zeiss, NDR). Priemerný čas trvania stanovení sa pri extrakčnej AAS prakticky nepredlži oproti času potrebnému na stanovenie AAS s elektrotermickou atomizáciou priamo, bez extrakcie, najmä pri sériových analýzach, keď je čas potrebný na extrakciu prakticky kompenzovaný rýchlosťou merania atómovej absorpcie plameňovou technikou, ktorá je väčšia ako pri technike s elektrotermickou atomizáciou.

Literatúra

1. ŠPANKOVÁ, M.: Acta Fac. Rer. Nat. Univ. Comen., Chimia, 1985 (v tlači).
2. Analytical Methods for AAS. Norwalk, Perkin-Elmer 1971.
3. ŠPANKOVÁ, M.: Možnosti využitia fluórovaných β -diketónov pri analýze stopových množstiev prvkov v biologických materiáloch. Kandidátska dizertačná práca. Bratislava, Prírodovedecká fakulta UK 1984.
4. ŠPANKOVÁ, M. — SMIRNOVÁ, L. — ĎURČANSKÁ, J.: Acta Fac. Rer. Nat. Univ. Comen., Chimia, 31, 1983, s. 73.
5. BOCK, R.: A Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry. Glasgow—London, Int. Textbook Co. 1979.

6. SMIRNOVÁ, L. a kol.: Acta Fac. Rer. Nat. Univ. Comen., Chimia, 1985 (v tlači).
7. Analytische Methoden der flammenlosen Atom-Absorptions-spektroskopie mit der Graphit-Kuvette HGA 72, Perkin-Elmer. Überlingen, Bodenseewerk 1972.

Определение тяжелых металлов в биологическом материале посредством атомной абсорбционной спектрометрии после экстракционной концентрации

Резюме

В настоящей работе применялся метод атомной абсорбционной спектрометрии (ААС) с пламенем в качестве атомизационной среды для определения следов концентраций Cd, Pb и Cu после предшествующей концентрации металлов при помощи метода экстракции. Прямое всасывание экстракта β -дикетохелатов металлов в ксилене в пламя позволяет достигнуть предел определения, сопоставительный с пределом определения по средством техники ААС с электротермической атомизацией.

Determination of heavy metals in biological material by means of atomic absorption spectrometry after extraction concentration

Summary

The method of atomic absorption spectrometry (AAS), with flame as an atomization environment, was used in this work to determine trace concentrations of Cd, Pb and Cu following the concentration of the metals by extraction method. The direct absorption of the extract of β -diketochelates of metals in xylene into flame made it possible to achieve the determination limit comparable with that of AAS technique with electrothermal atomization.