



Oznaczanie Mg, Ca i Zn we włosach techniką atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu (FAAS)

Oznaczanie zawartości pierwiastków śladowych oraz substancji organicznych we włosach znane było już 150 lat temu. W 1858 roku opublikowano pierwszą informację o wykryciu arsenu (będącego składnikiem arseniku) we włosach z ekshumowanego po 11 latach ciała. Obecnie włosy są wykorzystywane do ujawniania przypadków zatruc, których dokonano za pomocą toksyn odkładających się w keratynie włosa. Do takich substancji oprócz trójtlenku arsenu (arseniku) zalicza się między innymi antymon i tal [1]. Od 1960 roku włosy ludzkie są wykorzystywane do badań zawartości pierwiastków istotnych fizjologicznie (Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Mn). Ich normalna zawartość we włosach ludzkich nie poddawanych koloryzacji wynosi 200 – 2800 $\mu\text{g/g}$ dla Ca, 60 – 160 $\mu\text{g/g}$ dla Mg, 160 – 240 $\mu\text{g/g}$ dla Zn i 5 – 30 $\mu\text{g/g}$ dla Fe, 10 – 100 $\mu\text{g/g}$ dla Cu i 0,2 – 2 $\mu\text{g/g}$ dla Mn [2]. Badania takie mają na celu ocenę zasobów mineralnych organizmu oraz oszacowanie narażenia organizmu na zanieczyszczenia.

Na zawartość pierwiastków we włosach mogą mieć wpływ czynniki zewnętrzne, takie jak: narażenie zawodowe, pora roku, styl życia, nawyki (np. palenie), rodzaj przyjmowanego pożywienia, oraz wewnętrzne, takie jak: skłonności genetyczne, choroby przewlekłe oraz przyjmowane leki. Dowiedziono, że poziom pierwiastków we włosach zależy również od płci, koloru włosów oraz wieku osoby.

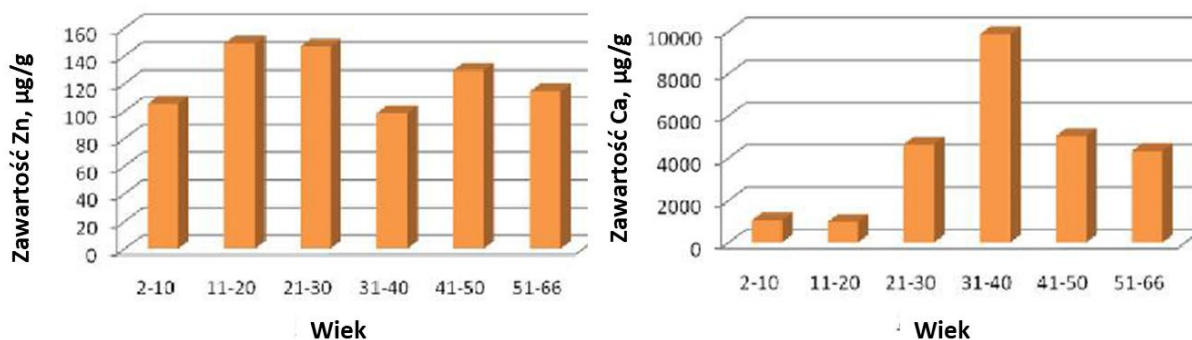
Czynnik	Płeć	Zawartość metali we włosach, $\mu\text{g/g}$	
		Zn	Cu
Miejsce zamieszkania	- miasto	Mężczyzna	266 \pm 56
		Kobieta	159 \pm 49
	- wieś	Mężczyzna	149 \pm 36
		Kobieta	91 \pm 38
Kolor włosów	- blond	Mężczyzna	151 \pm 19
		Kobieta	91 \pm 30
	- brązowe	Mężczyzna	180 \pm 56
		Kobieta	100 \pm 35
	- czarne	Mężczyzna	220 \pm 26
		Kobieta	145 \pm 45
Nawyk palenia	> 1 paczka dziennie	Mężczyzna	188 \pm 67
		Kobieta	122 \pm 26
	- brak nałogu	Mężczyzna	171 \pm 52
		Kobieta	134 \pm 38

Włosy kobiet mają wyższą zawartość wapnia, miedzi, magnezu i niklu, a niższą ołowiu, bromu i selenu w porównaniu z włosami mężczyzn. Stwierdzono, że z wiekiem we włosach maleje zawartość siarki i wapnia a





wzrasta zawartość ołowiu. Wpływ wieku na zawartość Ca i Zn we włosach przedstawiono na poniższych rysunkach.



Rys. 1. Wpływ wieku na zawartość Zn i Ca we włosach [2]

Oprócz wymienionych czynników skład pierwiastkowy włosów ulega również zmianie pod wpływem środków stosowanych do pielęgnacji włosów (np. szamponów, odżywek, żelu) oraz niektórych zabiegów fryzjerskich (np. rozjaśnianie, koloryzacja, trwała ondulacja, prostowanie keratynowe). Szampony lecznicze często zawierają w swoim składzie sód, selen, cynk i tytan, a środki koloryzujące – bar, wapń, miedź, magnez, sód oraz stront. Włosy mogą ulec zanieczyszczeniu w sposób naturalny wydzieliną z gruczołów potowych oraz łojowych bogatą w sole potasu, sodu, wapnia oraz cynku [3].

Z uwagi na występujące czynniki szacuje się, że tylko raz na milion występuje sytuacja, iż dwie próbki włosów pochodzących z różnych źródeł mają taki sam skład chemiczny [1].

1. Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia jest zapoznanie z techniką atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu na przykładzie oznaczania wapnia, magnezu i cynku we włosach.

2. Eksperymentalny dobór parametrów pomiarowych

Przygotować roztwór wzorcowy zawierający 0,4 mg/mL jonów magnezu oraz 15 mg/mL jonów wapnia oraz 2 mg/mL jonów cynku. W tym celu należy odmierzyć 0,75 mL roztworu wzorcowego wapnia ($C_{Ca} = 1$ g/L) oraz 2 mL roztworu wzorcowego magnezu ($C_{Mg} = 10$ mg/L) oraz 1 mL roztworu wzorcowego cynku ($C_{Zn} = 100$ mg/L) w kolbie miarowej na 50 mL i dopełnić 2 mol/L HNO_3 do kreski.

Zarejestrować absorbancję przygotowanego roztworu przy długości fali 422,7 nm odpowiadającej najczulszej linii atomowej wapnia. Następnie zbadać wpływ wysokości obserwacji nad palnikiem oraz zmiennego stosunku powietrza i acetylenu na wartość absorbancji wapnia. Na podstawie wykresów przedstawiających zależność wartości sygnału analitycznego od każdego z badanych parametrów, wybrać optymalne warunki oznaczania wapnia (w których uzyskano maksymalny sygnał absorpcji wapnia). Warunki te należy zastosować w dalszej części ćwiczenia.

W celu wyboru optymalnych warunków oznaczania magnezu i cynku należy powtórzyć opisaną procedurę przy długości fali 285,2 nm dla Mg i 213,859 nm dla Zn.





3. Oznaczanie wapnia, magnezu i cynku w próbkach włosów. Porównanie różnych technik wzorcowania: wykresu wzorcowego i dodatku wzorca

Zawartość trzech pierwiastków we włosach należy oznaczyć następującymi technikami wzorcowania: wykresu wzorcowego, dodatku wzorca. W kolbach na 50 mL przygotować w 2 mol/L HNO₃ serię wzorców zawierających Ca, Mg i Zn wg schematu:

Kolba	Objętość wzorca Ca (1 g/L)	Objętość wzorca Mg (10 mg/L)	Objętość wzorca Zn (100 mg/L)
1a	0,25 mL	0,5 mL	0,25 mL
2a	0,50 mL	1,0 mL	0,5 ml
3a	0,75 mL	2,0 mL	1 mL
4a	1,00 mL	3,0 mL	1,5 mL
5a	1,50 mL	4,0 mL	2 mL

Zarejestrować absorbancję wapnia, magnezu i cynku w sporządzonych roztworach oraz roztworach roztworzonych próbek włosów stosując jako odnośnik 2 mol/L HNO₃. Wykreślić wykresy wzorcowe oznaczanych pierwiastków jako wartość absorbancji w funkcji analitu.

W kolbach na 25 mL sporządzić roztwory do metody dodatku wzorca w następujący sposób (dopełniając do kreski 2 mol/L HNO₃).

Kolba	Objętość próbki włosów	Objętość wzorca Ca (1 g/L)	Objętość wzorca Mg (10 mg/L)	Objętość wzorca Zn (100 mg/L)
1b	2,5 mL	0 mL	0 mL	0 mL
2b	2,5 mL	0,125 mL	0,25 mL	0,125 mL
3b	2,5 mL	0,25 mL	0,5 mL	0,25 ml
4b	2,5 mL	0,375 mL	1,0 mL	0,5 mL

Zarejestrować sygnały absorpcji wapnia, magnezu i cynku w przygotowanych roztworach. Wykonać wykres zależności absorbancji od stężenia dodanego analitu stosując regresję liniową. Odczytać zawartość oznaczanych pierwiastków w rozcieńczonej próbce oraz obliczyć zawartość analitów w próbkach włosów (uwzględnić rozcieńczenie). Odczytać także zawartość Ca, Mg i Zn z wykresów wzorcowych analitów. Porównać nachylenia wykresów wzorcowych oraz prostych wzorcowych w metodzie dodatku wzorca.

Wyznaczyć stężenie wapnia, magnezu i cynku w winie wszystkimi technikami wzorcowania. Podać przyczynę obserwowanych różnic. Porównać wyniki uzyskane we wszystkich przypadkach oraz ocenić, która metoda wzorcowania prowadzi do uzyskania bardziej wiarygodnych wyników podczas oznaczania metali we włosach.





Wymagania dotyczące sprawozdania

W opisie należy umieścić wszystkie wyniki dotyczące wpływu różnych czynników na sygnał analityczny wapnia, magnezu i cynku (obserwacje, wykresy, wnioski) zgodnie ze wskazówkami zawartymi w opisie ćwiczenia. Należy także podać wyniki oznaczeń trzech pierwiastków dwiema technikami wzorcowania. W przypadku otrzymania różnych zawartości krytycznie ocenić, który wynik jest bardziej wiarygodny. Na podstawie porównania otrzymanych zawartości wapnia, magnezu i cynku w próbce X z zawartościami oznaczanych pierwiastków w 3 wybranych do badań próbkach włosów oraz danymi literaturowymi (Rys. 1) wskazać wiek i płeć osoby, od której pochodzą włosy z próbki X.

Przykładowe zagadnienia

1. Zawartość Mg, Ca i Zn we włosach.
2. Czynniki mające wpływ na zawartość Mg, Ca i Zn we włosach.
3. Podstawy techniki atomowej spektrometrii absorpcyjnej i jej zastosowanie (m. in. budowa spektrometru oraz układu do wprowadzania próbek, źródła promieniowania, rodzaje atomizerów w AAS, zasada pomiaru w technice AAS).
4. Wpływ parametrów instrumentalnych na czułość oznaczania Ca i Mg techniką FAAS.
5. Sposoby kalibracji stosowane w metodach porównawczych (metoda krzywej wzorcowej, metoda dodatku wzorca).
6. W jakim przypadku wyniki uzyskane metodą wykresu wzorcowego i metodą dodatku wzorca są zgodne? W jakich przypadkach konieczne jest stosowanie metody dodatku wzorca?

Literatura

1. Metoda neutronowej analizy aktywacyjnej (NAA) a możliwość ustalenia charakteru zatrucia na podstawie włosa. Badania włosów Napoleona Bonaparte z lat 60. XX wieku i najnowsze badania z 2001 roku, *Problemy kryminalistyki* 255/07
2. A. Mutap, J. Huremović, M. Nuhanović, Analysis of some metals in human hair by the AAS method, *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina* 46 (2016) 19-26.
3. Magnez – pierwiastek życia; rozdział Magnez we włosach, Wydawnictwo Malamut, Warszawa 2016
4. Metody analitycznej spektrometrii atomowej – teoria i praktyka, pod redakcją W. Żyrnickego, J. Borkowskiej-Burneckiej, E. Szmyd i E. Bulskiej, Wydawnictwo Malamut, Warszawa 2010
5. Instrumentalne metody spektralne stosowane w analizie próbek środowiskowych, Ewa Bulska, Agnieszka Krata, (dostępny online) http://paek.ukw.edu.pl/wydaw/monogr/funkcjono/6_eb_inn.pdf
6. Analiza śladowa – zastosowania, pod redakcją I. Barańkiewicz, rozdziały: Ocena jakości wyników pomiarów analitycznych, *Problemy kalibracji w analizie śladowej*; Malamut, Warszawa 2014
7. Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych, rozdział: Walidacja procedur analitycznych, pod redakcją J. Namieśnika, P. Konieczki Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2015
8. Lidia Kozak, Przemysław Niedzielski, Interferencje w absorpcyjnej spektrometrii atomowej, *Lab* rok 17, nr 1 (dostępny online) <http://www.chemia.pk.edu.pl/wydzial/info/c1/plp/ASA/interferencje.html>





UNIWERSYTET W BIAŁYMSTOKU

15-097 Białystok, ul. M. Skłodowskiej-Curie 14
tel. +48 85 745 70 00, fax +48 85 745 70 73, e-mail: uniwersytet@uwb.edu.pl

