

УДК 613.26/.29 : 621.317

МЕЛЬНИЧЕНКО Т.І., ПЕТРЕНКО О.Д.

ПРОБЛЕМНІ ПИТАННЯ ВИЗНАЧЕННЯ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ МЕТОДОМ ІНВЕРСІЙНОЇ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРІЇ І ШЛЯХИ ЇХ ВИРІШЕННЯ

Розглянуто методи, які застосовуються для визначення мікроелементів у харчових продуктах. Для проведення масових досліджень запропоновано метод інверсійної вольтамперометрії. Наведено переваги та недоліки даного методу. Дослідження виконано із використанням вольтамперометричних аналізаторів «ЕКОТЕСТ» і «АВА-3». За результатами досліджень запропоновано оптимізувати підготовку проб, а також підготовку робочої поверхні електродів, для контролю якості якої бажано використовувати еталон чистоти поверхні.

Ключові слова: харчові продукти, мікроелементи, інверсійна вольтамперометрія, електрод, підготовка проб, аналізатор

Рассмотрены методы, которые применяются для определения микроэлементов в пищевых продуктах. Для проведения массовых исследований предложен метод инверсионной вольтамперометрии. Приведены преимущества и недостатки данного метода. Исследования выполнены с использованием вольтамперометрических анализаторов «ЭКОТЕСТ» и «АВА-3». По результатам исследований предложено оптимизировать проб подготовку проб, а также подготовку рабочей поверхности электродов, для контроля качества которой желательна использовать эталон чистоты поверхности.

Ключевые слова: пищевые продукты, микроэлементы, инверсионная вольтамперометрия, электрод, подготовка проб, анализатор

Methods used for the determination of trace elements in food are examined. As a method for conducting numerous of studies are proposed inversion voltammetry. Advantages and isadvantages of this method are shown. Studies performed using voltammetric analyzers "ECOTEST" and "AVA-3". According to the results of research is proposed to optimize the preparation of samples, as well as preparing the working surface electrodes, of which quality control is desirable to use the standard of cleanliness of the surface

Keywords: food, minerals, inversion voltammetry, the electrode, the sample preparation, analyzer

Вступ

Сьогодні в Україні спостерігається вкрай негативна ситуація щодо стану здоров'я різних груп населення. Одним з важливих питань охорони здоров'я населення України є проблема вивчення, корекції та проведення моніторингу мікроелементного дисбалансу, оскільки мікроелементози визнані одним з провідних факторів порушень стану здоров'я та, відповідно, одним з провідних напрямків наукових досліджень в світі [1, 2, 3].

Відповідно до сучасних уявлень, в більшості випадків порушення обміну мікроелементів пов'язане з порушенням раціону харчування, підвищеним фізичним та психоемоційним навантаженням, негативним впливом на організм різноманітних екотоксикантів.

Достовірними методами оцінки мікроелементного дисбалансу є визначення мікроелементів в органах та тканинах організму, проте ці методи високовартісні та нерідко є інвазивними [4, 5, 6].

Важливим методом оцінки забезпеченості населення нутрієнтами, в тому числі мікроелементами, є розрахункова оцінка споживання окремих продуктів та порівняння з фізіологічними нормами споживання. Зазначений метод не є точним і дає лише приблизне уявлення про наявні порушення харчування та можливі у зв'язку з цим зміни в стані здоров'я. Проте, він застосовується найчастіше, оскільки не потребує значних фінансових затрат на проведення, дозволяє швидко оцінити стан харчування та забезпеченість нутрієнтами як великих груп населення, так і окремих людей [7].

Лабораторне визначення вмісту мікроелементів в продуктах харчування, що споживає населення, дає змогу більш точно оцінити ступінь та направленість мікроелементного дисбалансу. Таким чином, для оцінки забезпеченості харчування населення мікроелементами слід використовувати весь комплекс методів. Зараз для визначення мікроелементів у продуктах харчування та рослинній сировині застосовують найсучасніші методи аналізу: спектральні, хроматографічні, електрохімічні, радіоспектроскопічні тощо. Досить розповсюдженими можна визнати спектральні методи аналізу, серед яких варто виділити атомно-абсорбційну спектрометрію з полум'яною і електротермічною атомізацією в графітовій кюветі, атомно-емісійну спектрометрію з індукційно зв'язаною плазмою і мас-спектрометрію з індукційно зв'язаною плазмою. Так, для мас-спектрометричного методу з індукційно зв'язаною плазмою (ICP-MS) характерним є поєднання високої відтворюваності, низьких меж виявлення, широкого діапазону визначуваних концентрацій, автоматизації і ефективного програмного забезпечення, тому зазначений метод вважають високоінформативним для дослідження харчових продуктів [8, 9]. Традиційно для визначення мікроелементів застосовується спектрофотометричний метод, який сьогодні залишається одним із самих доступних. Особливістю зазначеного методу, що базується на вимірюванні поглинання електромагнітного випромінювання оптичного діапазону молекулами або іонами речовини, є те, що селективність забезпечується на етапі прободготовки – за рахунок вибору реагенту, умов проведення хімічної реакції та розділення забарвлених продуктів реакції [10]. Менш поширеним є метод вискоефективної рідинної хроматографії, що застосовується в поєднанні з індукційно-зв'язаною мас-спектрометрією, зокрема для визначення селену та інших елементів [11, 12]. В практичній діяльності багатьох лабораторій, особливо невеликих, для визначення мікроелементів використовують електрохімічні методи аналізу, зокрема метод інверсійної вольтамперометрії (ІВА) – один із сучасних фізико-хімічних методів. Головною перевагою ІВА вважається нескладне обладнання, низька вартість обслуговування, устаткування та реактивів, можливість визначення 3 – 5 елементів в одній пробі. Для визначення мікроелементів застосовують і інші методи, яким також притаманні свої сильні і слабкі сторони. З різних причин (в залежності від мети, обсягу досліджень, матеріальної бази тощо) в аналітичних лабораторіях віддають перевагу тому чи іншому методу.

Мета досліджень – оцінити переваги і недоліки інверсійної вольтамперометрії для визначення мікроелементів у продуктах харчування та запропонувати шляхи оптимізації.

Матеріали і методи

Для проведення експериментальних досліджень застосовано вольтамперометричні аналізатори «ЕКОТЕСТ-ВА» та «АВА-3» (за трьохелектродною схемою).

Вимірювальна чарунка аналізатора «Екотест-ВА» складається з імпрегнованого сріблом графітового електроду, допоміжного електроду ЕПВ-1СР, електроду порівняння ЭВЛ-1М3.1; аналізатора «АВА-3» – з індикаторного вуглецево-ситалового електроду, на робочу поверхню якого електрохімічним шляхом нанесено плівку ртуті (для вимірювання селену та арсену - імпрегнованого золотом електроду ЭМ-5), допоміжного електроду ЕПВ-02, електроду порівняння ЭВЛ-1М4. На вольтамперограмі реєструються піки, положення яких визначається потенціалом окислення/відновлення речовини, а висота – пропорційна концентрації елементу.

Для підготовки проб застосовували «суху» мінералізацію, яку проводили за допомогою системи для мікрохвильового озолення «PHOENIX».

Результати досліджень та обговорення

Швидкий розвиток мікроелементології вимагає постійного контролю вмісту мікроелементів в об'єктах навколишнього середовища, особливо у харчових продуктах, оскільки саме вони є основним джерелом формування мікроелементного профілю організму людини. При цьому такі дослідження мають виконуватися масово в різних регіонах України, оскільки відмінності в мікроелементному забезпеченні різних груп населення є підставою для розробки та впровадження адекватних профілактичних заходів. Так, за результатами наших досліджень фактичний вміст селену, міді, цинку, йоду та заліза в харчових продуктах загального вжитку Північних областей України значно відрізняється від розрахункових показників.

Для визначення мікроелементів в об'єктах довкілля прийнятним є застосування методу інверсійної вольтамперометрії, оскільки зазначений метод пропонується для виконання саме масових досліджень, характеризується високою чутливістю і широким діапазоном вимірюваних концентрацій, а також не вимагає значних матеріальних витрат та часу.

Разом з тим, в процесі проведення досліджень мають місце певні труднощі щодо відтворюваності результатів. Пов'язано це, в першу чергу, зі станом робочої поверхні електродів. Так, в процесі виконання вимірювань масової концентрації міді, цинку, заліза та інших мікроелементів (прилад «АВА-3») на електроді має сформуватися ртутна плівка (за рахунок додавання розчину азотнокислої ртуті (II) до фонового). Виявлено, що формування ртутної плівки на електроді не завжди відбувається належним чином (рис. 1).

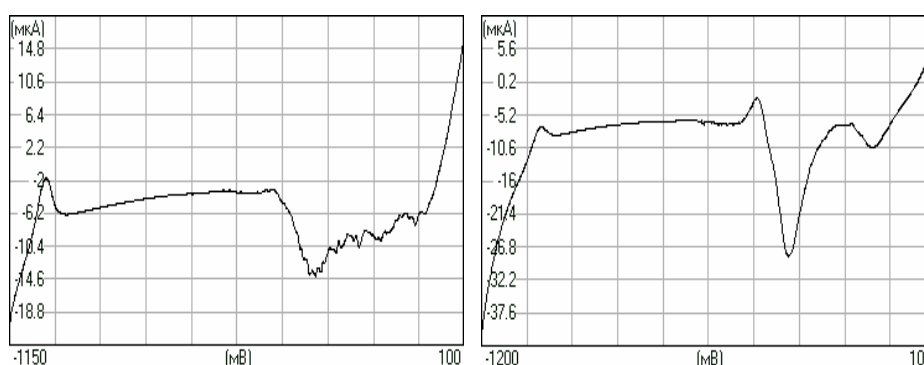


Рис. 1. Вольтамперні криві фонового розчину – ртутна плівка не сформована (визначення Pb^{2+} , Cu^{2+} – фон хлоридний)

Також можливе руйнування плівки в процесі здійснення вимірювань, про що свідчить зміна форми вольтамперної кривої і піку добавки, який за висотою стає меншим піку проби (рис. 2).

На нашу думку, формування ртутної плівки залежить від стану робочої поверхні електроду: утворення окисної плівки, якості механічної обробки (шліфування), що за необхідності проводиться оператором вручну. Так, через недостатнє шліфування робочої поверхні електроду на ній поступово утворюються окисна плівка та окремі ділянки шорсткості, що здатні накопичувати з досліджуваного розчину іони важких металів, йоду, деякі органічні речовини тощо.

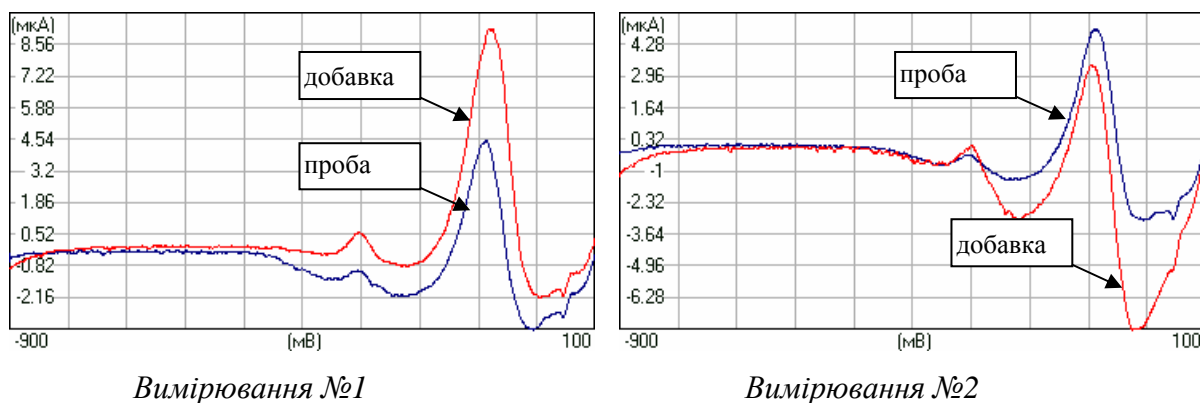


Рис. 2. Вольтамперні криві проби і добавки – два послідовних вимірювання (визначення Cu^{2+} , фон хлоридний)

Такий стан електроду призводить до зниження чутливості та нестабільної роботи приладу, значної похибки результату. Застосування програмних засобів корекції (так званого «згладжування») отриманого в ході експерименту графіку позначається на точності результату. Надмірне шліфування електроду також є шкідливим, оскільки при цьому поступово відбувається втрата матеріалу чутливого елементу електроду та знижується термін його експлуатації. Окрім того, надмірне шліфування створює небезпеку відшарування та розгерметизації корпусу електроду (зробленого, як правило, з пластмаси), через що він виходить з ладу.

Як вказується в методичних вказівках, робочу поверхню електроду необхідно шліфувати у разі зниження чутливості, але детальний опис виконання такої операції не наводиться ні для приладу «ЕКОТЕСТ», ні для «АВА-3». Хоча в джерелах інформації можна зустріти окремі дані з цього приводу: новосибірськими науковцями запропоновано оновлювати робочу поверхню електроду безпосередньо у досліджуваному розчині шляхом зрізання електроду на певну висоту титановим різакон [13]. Однак таку операцію важко здійснити без спеціального устаткування, а електрод дуже швидко втратить робочі розміри. Нами виявлено, що для отримання стабільних результатів робочу поверхню електроду необхідно не шліфувати, а полірувати приблизно до 11 – 12 класу чистоти поверхні. Таку поверхню можна отримати за рахунок використання пасти «ГОИ» № 1 або № 2 (для полірування ювелірних виробів). Техніка застосування пасти нескладна, але є певні нюанси. Так, пасту потрібно наносити не безпосередньо на поверхню електроду, а на основу (наприклад, на папір), після нанесення – обов'язково розтерти металічним предметом до однорідного стану, а вже потім – полірувати поверхню електроду.

Для уникнення недоліків механічної обробки та забезпечення якості підготовки електродів бажано комплектувати прилад еталоном відповідного класу чистоти поверхні. Порівняння стану робочої поверхні електродів з відповідним еталоном дало б можливість вчасно проводити відповідну обробку та уникати негативних наслідків як недостатнього, так і надмірного шліфування.

На рис. 3 наведено вольтамперні криві фонового розчину для вимірювання йоду (прилад «ЕКОТЕСТ») перед механічною обробкою чутливого елементу електроду і після неї. На вольтамперній кривій 1 спостерігається максимум, який відповідає максимуму йоду, що вказує на сорбцію мікроелементу з попередньо вимірюваних розчинів поверхню чутливого елементу електроду, на якій утворилася окисна плівка, а також ділянки шорсткості. В результаті механічної обробки поверхні електроду зазначені недоліки усуваються (вольтамперна крива 2).

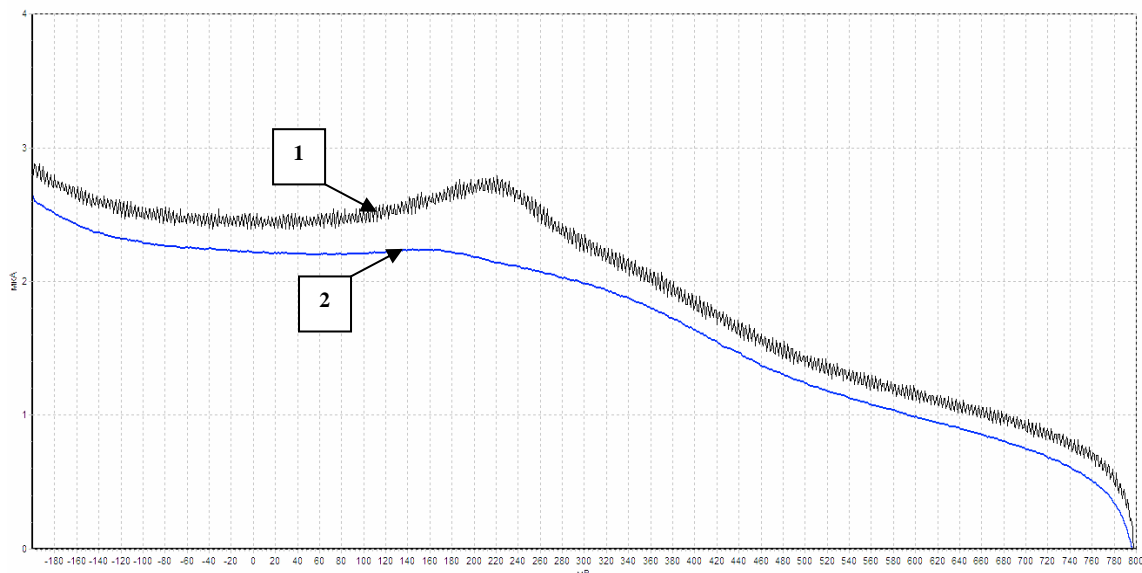


Рис. 3. Вольтамперні криві фоновому розчину для вимірювання йоду до механічної обробки чутливого елемента електроду (1) і після неї (2)

Підвищення чутливості електроду досягається не тільки за рахунок механічної обробки, але і його активації. Операція активації 0,1 М сірчаною кислотою є обов'язковою для вимірювання йоду (прилад «ЕКОТЕСТ») і, в порівнянні з механічною обробкою, втрати чутливого елемента електроду вкрай незначні. Індикаторний електрод для визначення селену (прилад «АВА-3») активують 0,05 М хлористоводневою кислотою. Враховуючи, що на робочу поверхню нанесено тонкий шар золота, методичні вказівки містять застереження стосовно будь-якого механічного впливу на електрод, а також тривалого впливу хлористоводневої кислоти. Незважаючи на ретельне виконання вимог, електрод все-таки поступово руйнується. Тому для активації і відновлення електроду нами використано розчин ДСЗУ золота з масовою концентрацією 0,1 мг/см³ (після розведення). Необхідно зазначити, що в результаті обробки утворюється надто тонкий шар золота, якого вистачає лише на 4 – 5 годин роботи, проте активацію хлористоводневою кислотою потрібно проводити також двічі на день.

Іншим аспектом інверсійної вольтамперометрії є наявність в досліджуваному розчині речовин, що перешкоджають ідеальному перебігу електрохімічних реакцій. Іноді такі речовини згадують в методичних вказівках. Наприклад, визначенню селену (прилад «АВА-3») заважають хлориди, а повного видалення хлоридів не завжди вдається досягнути. Зокрема, досліджуваний нами зразок «Хліба українського» містить значну кількість хлоридів, що залишилися у досліджуваному розчині після проведення підготовки проби. На рис. 4 показано вольтамперну криву, яку отримано в результаті вимірювання вищезгаданої проби (вікно програми «АВА»). Видно, що замість піку селену (ділянка, межі якої показано відрізком з написом «Se»), що має бути максимумом, спостерігається зворотне явище – мінімум на графіку. В даному випадку об'єм добавки, який автоматично розраховується за висотою піку, буде від'ємним, і це не дозволяє продовжити подальшу роботу оскільки є неприпустимим.

Селективність визначення має бути забезпечено режимами вимірювання, але так не завжди відбувається в практиці. Приклад наведено на рис. 5: на вольтамперній кривій (вікно програми «АВА») спостерігається максимум, який майже співпадає з максимумом селену (ділянка, межі якої показано відрізком з написом «Se»), що обумовлено присутністю нітратів у досліджуваному розчині. Досить проблематично в такій ситуації правильно визначити масову концентрацію селену в розчині, так як в реальних пробах положення максимуму вимірюваного елемента може незначно зміщуватися у порівнянні зі стандартними

розчинами. Тому необхідно проведення специфічної підготовки проб для видалення речовин, що перешкоджають проведенню вимірювань.

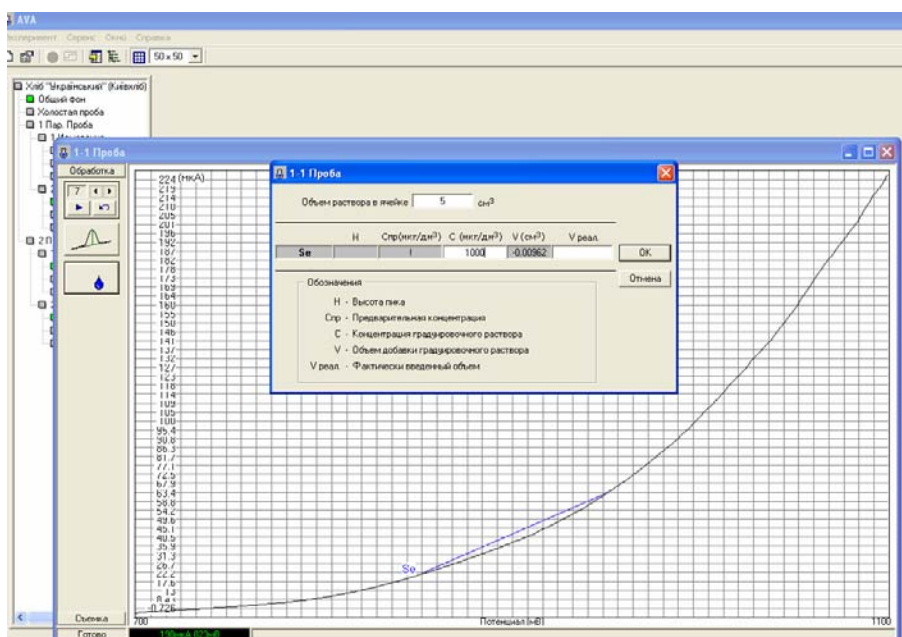


Рис. 4. Приклад вольтамперної кривої проби при визначенні селену в зразках хліба «Український, що містить хлориди

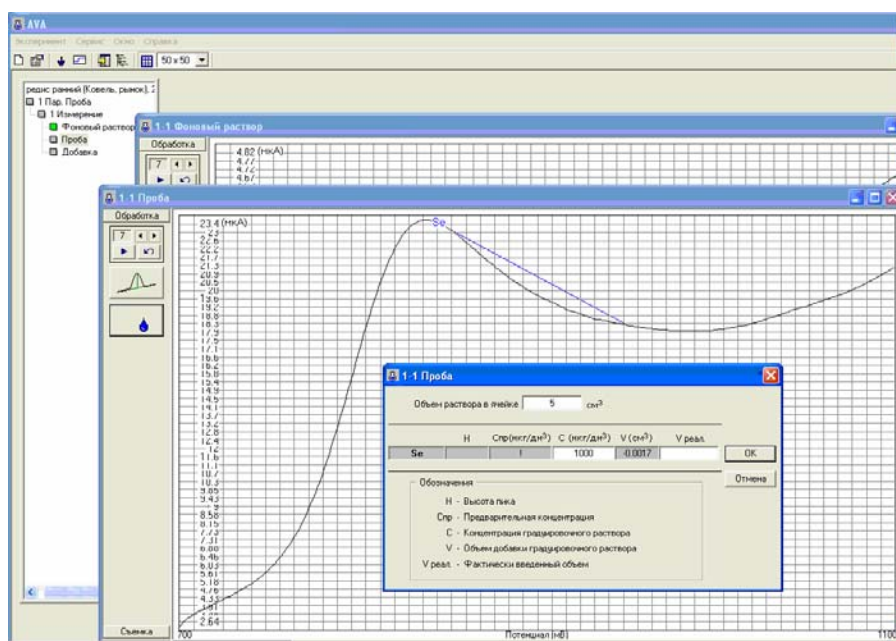


Рис. 5. Приклад вольтамперної кривої проби при визначенні селену в зразках редису, що містить нітрати

Важливе значення має також автоматизація процесів вимірювання мікроелементів. На жаль, така можливість передбачена тільки для приладу «ЕКОТЕСТ» за рахунок застосування автосамплера, за допомогою якого можна на порядок підвищити результативність аналізу.

Висновки

Метод інверсійної вольтамперометрії є цілком прийнятним для проведення масових досліджень щодо визначення мікроелементів у харчових продуктах, зважаючи на його високу чутливість, широкий діапазон концентрацій, нескладне обладнання, економічність. Разом з тим, існує залежність відтворюваності результатів досліджень від стану електродів та речовин, що перешкоджають ідеальному перебігу електрохімічних реакцій. Тому проведення досліджень вимагає адекватної підготовки електродів для проведення досліджень та специфічної пробопідготовки для видалення речовин, які заважають проведенню аналізу.

Незважаючи на наявність великої кількості методик вимірювання мікроелементів методом інверсійної вольтамперометрії, в них приділяється недостатньо уваги підготовці електродів та пробопідготовці, що впливає на якість отриманих результатів. Для уникнення недоліків механічної обробки та забезпечення якості підготовки електродів бажано, комплектувати вольтамперометричні аналізатори еталоном відповідного класу чистоти поверхні.

Враховуючи викладене вище, необхідно приділяти значну увагу оптимізації процесу підготовки проб, а також ретельній підготовці електродів до проведення вимірювань.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Ибрагимова М.Я., Сабирова Л.Я., Березкина Е.С.** Взаимосвязь дисбаланса макро- и микроэлементов и здоровье населения // Казанский медицинский журнал. – 2011. – Т. 92, № 4. – С. 606–609.
2. **Марушко Ю.В., Таринська О.Л., Бойко Н.С.** Оцінка рівня соматичного здоров'я та корекція мікроелементозів учнів старших класів при інтенсивному способі навчання // Східноєвропейський журнал громадського здоров'я. – 2012. – № 1. – С. 193–195.
3. **Фролова Т.В., Охачкіна О. В.** Роль мікроелементного профілю у системі регіонального моніторингу здоров'я дитячого населення // Перинатологія та педіатрія. – 2010. – № 3. – С. 81–83.
4. **Морозов И.В.** Определение количественного содержания элементов в крови человека методом атомного эмиссионного спектрального анализа // Спектрометрические методы анализа : Материалы II Всероссийской научной конференции с международным участием (23 сентября 2014 г., Казань). – Казань: Альянс, 2014. – С. 104-108.
5. **Скальная М.Г.** Применение элементного анализа волос при изучении заболеваемости детского и взрослого населения // Галицький лікарський вісник. – 2011. – Том 18, № 4. – С. 146–149.
6. **Bazzi Ali, Nriagu Jerome O., Linder Aaron M.** Determination of toxic and essential elements in children's blood with inductively coupled plasma-mass spectrometry // J. Environ. Monit. – 2008. – Vol. 10, № 10. – P. 1226-1232.
7. Химический состав пищевых продуктов. Кн. 2: Справочные таблицы содержания аминокислот, жирных кислот, витаминов, макро- и микроэлементов, органических кислот и углеводов / Под ред. И.М. Скурихина и М.Н. Волгарева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1987. – 360 с.
8. **Третьяков А.В., Амелин В.Г., Подколзин И.В., Абраменкова О.И.** Идентификация географического происхождения и фальсификации пищевых продуктов растительного и животного происхождения методом МС-ИСП // XIX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии : тезисы докладов (25 – 30 сентября 2011 г., Волгоград). – Волгоград: Югполиграфиздат, 2011. – Т. 4. – С. 417.
9. **Уланова Т.С., Гилева О.В., Стенно Е.В., Вейхман Г.А., Недошитова А.В.** Особенности определения эссенциальных и токсичных элементов в стандартных образцах мочи методом исп – мс с октопольной реакционной ячейкой // Спектрометрические методы

анализа : Материалы II Всероссийской научной конференции с международным участием (23 сентября 2014 г., Казань). – Казань: Альянс, 2014. – С. 161-164.

10. **Булатов М.И., Калинин И.П.** Практическое руководство по фотометрическим методам анализа -5-е изд., перераб. – Л. : Химия, 1986. – 432 с.
11. **Li Yu-Feng, Chen Chunying, Li Bai, Wang Qing, Wang Jinagxue, Gao Yuxi, Zhao Yuliang, Chai Zhifang.** Simultaneous speciation of selenium and mercury in human urine samples from long-term mercury-exposed populations with supplementation of selenium-enriched yeast by HPLC-ICP-MS // J. Anal. Atom. Spectrom. – 2007. – Vol. 22, № 8. – P. 925-930.
12. **Entwisle J.** Simultaneous determination of total S, P, Se and As and elemental species by HPLC coupled to ORS ICP-MS using species-specific isotope dilution mass spectrometry // 3 International IUPAC Symposium on Trace Elements in Food, 1-3 April, 2009. – Rome. – P. 11.
13. **Бек Р.Ю., Александрова Т.П., Тарасова В.А., Скворцова Л.И., Кирюшов В.Н.** Механически обновляемый твердый электрод // Теория электроаналитической химии и метод инверсионной вольтамперометрии : материалы симпозиума (28 сентября – 1 октября 2000 г., Томск). – Томск : Изд-во ТПУ, 2000. – С. 67-80.

ДУ «Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва НАМН України», м. Київ

*Надійшло до редакції
11.12.2014*