

АНАЛИЗ МЕТАЛЛОВ ПРИ ЭКСПЕРТНОМ ИССЛЕДОВАНИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

А.В. Воронин

к.фарм.н., доцент, Самарский государственный медицинский университет
E-mail: dimmu2000@mail.ru

На примере из экспертной практики дана сравнительная характеристика возможностей методов анализа металлов в судебно-химической экспертизе и аналитической диагностике острых отравлений – инверсионной вольтамперометрии и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой.

Ключевые слова: соединения металлов, кадмий, таллий, масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой, инверсионная вольтамперометрия, биологический материал.

Для цитирования: Воронин А.В. Анализ металлов при экспертном исследовании биологического материала. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018;21(9):33–38. <https://doi.org/10.29296/25877313-2018-09-04>

В настоящее время характер элементной аналитической химии существенно изменился благодаря развитию инструментального анализа. Спектральные и электрохимические методы получили широкое распространение для рутинного анализа на коммерчески доступных приборах [1–4].

Экспертизы, связанные с определением соединений металлов в биологическом материале, в структуре современного судебно-химического и химико-токсикологического анализа в РФ составляют примерно 3% от общего количества исследований [5]. Анализируемые объекты (органы, биологические жидкости) имеют сложный состав, набор сопутствующих веществ сильно варьирует в пробах, и существенный вклад в изменение содержания анализируемого вещества в объекте вносят его распределение в организме и особенности пробоотбора [6].

Ц е л ь р а б о т ы – сравнительное исследование возможностей методов анализа соединений металлов в судебно-химической экспертизе и аналитической диагностике острых отравлений на примере из экспертной практики.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали образцы крови живых лиц с подозрением на отравление соединениями тяжелых металлов, а также трупный биологический материал (кровь, печень, почка, головной мозг).

Методика анализа методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС). *Пробоподготовка.* Точную навеску исследуемого объекта 0,01–0,05 г измельчали, по-

мещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 5 мл кислоты азотной концентрированной. Полученную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение 30 мин, а затем кипятили при перемешивании в течение 20 мин. В процессе кипячения в колбу добавляли 0,2 мл 30%-ного раствора водорода пероксида. Полученный раствор охлаждали и объем доводили до 50 мл водой деионизированной.

Анализ полученных минерализатов проводили ИСП-МС. Условия анализа: спектрометр Agilent Technologies 7500 CE; рабочая мощность – 1500 Вт; плазмообразующий поток аргона – 15,1 л/мин; транспортирующий поток аргона – 0,8 л/мин; охлаждающий поток аргона – 0,3 л/мин; время экспозиции изотопа – 0,1 с; число параллельных измерений – 3.

Количественное определение металлов осуществляли методом абсолютной градуировки. Для приготовления градуировочных растворов использовали калибровочный стандарт многоэлементный IV-28 («Inorganic Ventures», США), а также стандартный раствор ртути из многоэлементного калибровочного стандарта-2А 8500-6940 («Agilent», США). Погрешность аттестованного значения для указанных стандартных образцов составляла $\pm 2,0\%$. В качестве «холостой» пробы применяли раствор кислоты азотной концентрации 0,3 моль/л. Для контроля стабильности градуировочных характеристик использовали контрольные растворы, приготовленные из калибровочного стандарта многоэлементного IV-28, с концентрацией ионов элементов 0,01–0,1 мг/л.

Таблица 1. Условия определения металлов методом ИСП-МС

Элемент	Масса изотопа, а.е.м.	Диапазон определяемых концентраций, мкг/г
Хром	52 (53)	0,1–100000,0
Марганец	55	0,1–500000,0
Кобальт	59	0,1–100000,0
Никель	58 (60)	0,1–100000,0
Медь	63 (65)	0,1–100000,0
Цинк	66 (68)	5,0–500000,0
Мышьяк	75	0,1–100000,0
Серебро	107 (109)	0,1–100000,0
Кадмий	111 (112, 114)	0,05–100000,0
Олово	118 (120)	0,1–100000,0
Сурьма	121 (123)	0,1–100000,0
Барий	135 (137)	5,0–500000,0
Ртуть	201 (202)	0,05–100000,0
Таллий	205	0,1–100000,0
Свинец	206 (207, 208)	0,1–100000,0
Висмут	209	0,1–100000,0

В табл. 1 приведены условия определения металлов методом ИСП-МС: массы изотопов и диапазоны определяемых концентраций для объектов биологического происхождения, требующих минерализации.

Концентрации металлов в исследуемых объектах рассчитывали по формуле

$$C = \frac{C_{гр}V}{g},$$

где C – концентрация металла в анализируемом объекте, мкг/г (для проб крови, мкг/мл); $C_{гр}$ – концентрация металла в анализируемом растворе, определенная по градуировочной зависимости, мкг/мл; V – объем минерализата, полученного из объекта (анализируемого раствора), мл; g – навеска анализируемого объекта, г (для проб крови, мл).

Таблица 2. Условия определения металлов методом ИВА

Элемент	Значение потенциала E_p (потенциал пика окисления), В	Диапазон определяемых концентраций, мкг/л (мкг/мл)	Границы относительной погрешности измерений $\pm\delta$, %
Медь	–0,25	15,0–250,0 (0,015–0,25)	30
Свинец	–0,45	8,0–200,0 (0,008–0,20)	35
Кадмий	–0,65	4,0–200,0 (0,004–0,20)	40
Таллий	–0,70	–*	–
Цинк	–1,00	–*	–

Примечание: * – при аттестации методики анализа показатель не определялся.

Методика анализа методом инверсионной вольтамперометрии (ИВА). Анализ проб крови живых лиц проводили без стадии пробоподготовки (минерализации исследуемой пробы) по методике, приведенной в «МУ 08-47/073 Количественный химический анализ проб биологических объектов (кровь, моча). Методика выполнения измерений массовых концентраций кадмия, свинца и меди методом инверсионной вольтамперометрии» [7].

Объем анализируемой пробы крови составлял 1 мл. Условия определения металлов были следующими: анализатор вольтамперометрический АВА-3 с ртутно-пленочным индикаторным электродом; скорость развертки 80 мВ/с; время интегрирования 20 мс; потенциал начала развертки –1,2 В; потенциал конца развертки –0,1 В; фоновый электролит – раствор кислоты хлористоводородной 0,1 моль/л.

Количественное определение металлов осуществляли методом добавок. Для приготовления добавок использовали стандартные образцы состава растворов ионов цинка 1000,0 мг/л (МСО 0032:1998), ионов кадмия 1000,0 мг/л (МСО 0136:2000), ионов свинца 1000,0 мг/л (МСО 0525:2003), ионов меди 1000,0 мг/л (МСО 0523:2003), ионов таллия 1000,0 мг/л (МСО 0528:2003).

Концентрации металлов в пробах крови рассчитывали по формуле

$$C = \frac{I_{ст}C_{ст}V_{ст}}{(I_2 - I_1)V},$$

где C – концентрация металла в пробе крови, мкг/мл; $C_{ст}$ – концентрация добавленного стандартного образца раствора иона металла, мкг/мл; I_1 – высота пика металла в анализируемой пробе крови, мкА; I_2 – высота пика металла с добавкой стандартного образца раствора иона металла, мкА; V – объем анализируемой пробы крови, внесенный в измерительную ячейку, мл; $V_{ст}$ – объем добавки стандартного образца раствора иона металла, мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Аналитические возможности судебно-химических отделений бюро судебно-медицинской экспертизы ограничены недостаточным обеспечением оборудованием для элементного анализа и отсутствием в отделениях специалистов, в достаточном объеме владеющих техникой спектрального анализа. В настоящее время 33% государственных судебно-медицинских экспертных учреждений в РФ имеют возможности определения соединений металлов в биологическом материале инструментальными методами.

Самым доступным вариантом является метод химического анализа: для идентификации металлов применяется дробный химический анализ; количественное определение осуществляется в зависимости от конкретного металла либо титриметрическими, либо спектрофотометрическими методами. Данный вариант анализа характеризуется высокими значениями пределов обнаружения и количественного определения, невысоким уровнем селективности в отношении большинства металлов.

Некоторые экспертные учреждения оснащены оборудованием для рентгенофлуоресцентной спектрометрии, однако его применение ограничено относительно высокими пределами обнаружения металлов, выраженным «матричным» эффектом при выполнении количественных определений в биологическом материале и получаемых из него

минерализатах, а также отсутствием стандартных образцов для градуировки и контроля качества анализа. Метод анализа является пригодным для медико-криминалистических исследований объектов биологического и небιологического происхождения, но не удовлетворяет требованиям судебно-химического анализа [8].

В клиническом химико-токсикологическом анализе (аналитической диагностике острых отравлений) при исследовании проб биологических жидкостей живых лиц применяется метод ИВА.

Перечень металлов, определяемых указанным методом по аттестованной методике ограничен – это соединения меди, свинца, кадмия.

Имеется методика ИВА, разработанная ОАО НПП «Буревестник», она предполагает определение меди, свинца, кадмия и цинка [9].

Был рассмотрен случай из экспертной практики, связанный с отравлением соединениями металлов. В табл. 3 представлены результаты исследования проб крови лиц с подозрением на отравление соединениями тяжелых металлов; отравление группы произошло питьевой водой. В ходе исследования на клиническом этапе в пробах крови всех пострадавших был обнаружен кадмий, причем у пострадавшего мужчины возраста 40 лет наблюдалось превышение летальной концентрации кадмия в крови, которая составляет 1,10 мкг/мл. Через 4 сут этот пострадавший умер.

Таблица 3. Характеристики случаев отравления соединениями металлов

№	Пол, возраст	Диагноз	Содержание кадмия в крови, мкг/мл
1	Мужчина, 40 лет	Отравление соединениями металлов, умер через 4 сут после поступления в лечебное учреждение	1,22±0,37
2	Мужчина, 35 лет	Отравление соединениями металлов, невыраженная клиническая картина отравления	0,62±0,19
3	Женщина, 28 лет	Отравление соединениями металлов, невыраженная клиническая картина отравления	0,14±0,04

В рамках назначенной судебно-медицинской экспертизы проводилось судебно-химическое исследование на соединения металлов. В табл. 4 приведены результаты исследования биологического материала вышеуказанного пострадавшего, предположительная причина смерти – отравление солями кадмия.

В результате ИСП-МС-анализа биологического материала – крови, печени, почки, головного мозга, были количественно определены 16 металлов. Установлено, что содержание кадмия в образцах не превышало уровня летальной концентра-

ции, например, для крови составляло менее 0,05 мкг/мл (т.е. ориентировочно в 22 раза меньше летальной концентрации).

Содержание таллия в печени было на уровне летальной концентрации, а содержание в почках превышало ее в 6,7 раз и составляло 74,84 мкг/г. Концентрация таллия в крови была 2,91 мкг/мл, т.е. не превышала 4,00 мкг/мл – летальной концентрации таллия. Снижение концентрации таллия в крови связано с его распределением и выведением из организма в промежутке времени от отравления до летального исхода.

Таблица 4. Содержание металлов в исследуемых биологических объектах

Элемент	Кровь, мкг/мл		Печень, мкг/г	
	Обнаружено	При летальном исходе	Обнаружено	При летальном исходе
Хром	0,54±0,05	–	0,46±0,10	0,07
Марганец	<0,10	0,10	0,66±0,08	–
Кобальт	<0,10	1,36	0,25±0,01	0,34
Никель	0,41±0,05	7,50	0,26±0,03	27,00
Медь	0,41±0,06	33,00	3,92±0,40	258,00
Цинк	3,42±0,40	50,00	78,60±8,00	–
Мышьяк	<0,10	3,30	<0,10	29,00
Серебро	<0,10	–	<0,10	6,30
Кадмий	<0,05	1,10	0,25±0,06	80,00
Олово	<0,10	–	<0,10	–
Сурьма	<0,10	4,60	<0,10	45,00
Барий	<5,00	1,90	<5,00	1,60
Ртуть	<0,10	2,60	<0,10	30,00
Таллий	2,91±0,37	4,00	16,50±1,80	15,00
Свинец	<0,10	3,10	0,10±0,03	40,00
Висмут	<0,10	0,50	0,26±0,01	6,80
Хром	0,26±0,03	0,13	0,46±0,06	0,05
Марганец	<0,10	–	<0,10	–
Кобальт	<0,10	0,29	<0,10	–
Никель	<0,10	–	0,18±0,03	–
Медь	4,96±0,60	36,00	3,70±0,40	6,20
Цинк	9,36±1,05	–	9,24±0,81	–
Мышьяк	<0,10	15,00	<0,10	1,70
Серебро	<0,10	–	<0,10	0,60
Кадмий	<0,05	80,00	<0,05	0,50
Олово	<0,10	–	0,89±0,04	–
Сурьма	<0,10	32,00	<0,10	6,00
Барий	1,38±0,14	7,50	0,24±0,02	0,40
Ртуть	<0,10	22,00	<0,10	27,00
Таллий	74,84±6,43	11,00	3,12±0,40	7,80
Свинец	<0,10	8,8	0,41±0,10	5,80
Висмут	<0,10	33,00	<0,10	0,60

Таким образом, сопоставление результатов анализа биологического материала, полученных методами ИВА и ИСП-МС, свидетельствует о том, что на этапе экспресс-диагностики острого отравления были получены ложноположительные результаты, связанные с недостаточной селективностью ИВА. Потенциал пика окисления является аналитической характеристикой для идентификации металлов в ИВА, потенциалы окисления кадмия и таллия составляют $-0,65$ и $-0,70$ В соответственно.

ВЫВОДЫ

1. Дана сравнительная характеристика аналитических возможностей методов, применяемых в диагностике острых отравлений и судебно-химической экспертизе при исследовании на соединения металлов.
2. Кадмий и таллий имеют близкие по величине потенциалы пиков окисления, что приводит к получению ложноположительных результатов при исследовании проб биологических жидкостей методом ИВА на соединения кадмия. Дифференциация присутствия в анализируемых пробах биологического материала кадмия и таллия возможна с применением высокоселективного метода – ИСП-МС. Кроме того, было определено содержание еще 15 металлов, имеющих токсикологическое значение.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Медведев Н.С.* Аналитические возможности метода ИСП-АЭС с искровым и электротермическим способами ввода проб: Автореф. дисс. ... канд. хим. наук. Новосибирск. 2014. 133 с.
2. *Карандашев В.К., Туранов А.Н., Орлова Т.А. и др.* Использование метода масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой в элементном анализе объектов окру-

- жающей среды // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2007. № 73. С. 12–22.
3. *Лузанова И.С., Плетенева Т.В., Максимова Т.В. и др.* Определение таллия в моче человека при острых отравлениях методом атомно-абсорбционной спектрометрии // Судебно-медицинская экспертиза. 2008. № 6. С. 41–43.
 4. *Слепченко Г.Б., Пикула Н.П., Захарова Э.А. и др.* Применение вольтамперометрических методов для контроля биологических объектов на содержание микроэлементов // Известия Томского политехнического университета. 2011. № 3. С. 69–74.
 5. Государственные судебно-медицинские экспертные учреждения: [Электронный ресурс] // Официальный сайт ФГБУ «РЦСМЭ» Минздрава России. М. 2010–2017. URL: <http://www.rc-sme.ru/Institutions/>. (Дата обращения: 19.07.2018).
 6. *Тюрников А.П., Саломатин В.Е.* Применение методики измерений массовой доли токсичных элементов в биологических образцах атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией и прямым вводом проб в токсикологической экспертизе // 2-я Междунар. научно-практич. конф. «Современная химико-токсикологическая экспертиза» ASTE'2015. 6–7 октября 2015 г. М. 2015. С. 1–2.
 7. МУ 08-47/073 Количественный химический анализ проб биологических объектов (кровь, моча). Методика выполнения измерений массовых концентраций кадмия, свинца и меди методом инверсионной вольтамперометрии. Издание второе. С изменением №1: [Электронный ресурс] // Официальный сайт Росстандарта. Сведения об аттестованных методиках (методах) измерений. URL: http://www.fundmetrology.ru/06_metod/2list. (Дата обращения: 19.07.2018).
 8. *Безпалый Ю.Б., Мусин Э.Х., Романько Н.А.* Рентгено-спектральный флуоресцентный анализ: обобщение десятилетнего практического // Судебная медицина. 2016. № 2. Р. 162–163.
 9. Методика выполнения измерений содержания кадмия, свинца, меди и цинка в биообъектах (кровь, моча) методом инверсионной вольтамперометрии. СПб: ОАО НИП «Буревестник». 2004. 38 с.

Поступила 23 июля 2018 г.

THE METALS ASSAY FOR EXPERTISE OF BIOMATERIAL

© Authors, 2018

A.V. Voronin

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor, Samara State Medical University

E-mail: dimmu2000@mail.ru

The study objective was a comparative research of possibilities of metal analysis methods in forensic chemistry and hospital toxicology an example from expert practice. Materials and methods. The study objects was blood samples of humans with suspected for heavy metal poisoning and cadaveric biomaterial (blood, liver, kidney, brain). The methods was inductively coupled plasma mass spectrometry, inversion voltammetry. Results and discussion. The expert case of human group poisoning by metal compounds was reviewed. The inversion voltammetry in hospital toxicology use to analysis body fluids samples. This certified inversion voltammetry method allows to analyze compounds of cooper, lead, cadmium. Human blood samples that can have high metals concentration was analyzed. In blood samples of all patient cadmium was detected. A 40 years old man an excess of lethal cadmium concentration in the blood was found, wich is $1,10 \mu\text{g/ml}$. After 4 days this man died. When analyzed the cadaveric biomaterial of this man by mass spectrometry with inductively-coupled plasma 16 metals in blood, liver, kidney, brain was quantitated. The cadmium concentration in

all samples not exceed the lethal level. The thallium concentration in liver was at lethal level. The thallium concentration in kidneys was exceed lethal level 6,7 times, wich is 74,84 µg/g. The thallium concentration in blood was 2,91 µg/ml, did not exceed lethal level. Conclusion. A comparative analysis of possibilities of forensic chemistry method and hospital toxicology method at expertise of metal compounds was given. Cadmium and thallium have similar oxidation potentials peaks in inversion voltametry. For this reason, false positive results for cadmium of inversion voltammety analysis in body fluids expertise was obtained. Cadmium and thallium in bio-material are differentiated by method inductively coupled plasma mass spectrometry. Also possible by inductively coupled plasma mass spectrometry quantify 15 poisonous metals.

Key words: *metals, cadmium, thallium, inductively coupled plasma mass spectrometry, inversion voltammetry, biomaterial.*

For citation: Voronin A.V. The metals assay for expertise of biomaterial. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2018;21(9):33–38. <https://doi.org/10.29296/25877313-2018-09-04>

REFERENCES

1. Medvedev N.S. Analiticheskie vozmozhnosti metoda ISP-AES s iskrovym i elektrotermicheskimi sposobami vvoda prob: Avtoref. diss. ... kand. him. nauk. Novosibirsk. 2014. 133 s.
2. Karandashev V.K., Turanov A.N., Orlova T.A. i dr. Is-pol'zovanie metoda mass-spektrometrii s induktivno-svyazannoj plazmoj v elementnom analize ob'ektov okru-zhayushchej sredy // Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika ma-terialov. 2007. № 73. S. 12–22.
3. Luzanova I.S., Pleteneva T.V., Maksimova T.V. i dr. Opredelenie talliya v moche cheloveka pri ostryh otravle-niyah metodom atomno-absorbicnojj spektrometrii // Sudebno-medicinskaya ekspertiza. 2008. № 6. S. 41–43.
4. Slepchenko G.B., Pikula N.P., Zaharova E.A. i dr. Prime-nenie vol'tamperometricheskikh metodov dlya kontrolya biologicheskikh ob'ektov na sodержание mikroelementov // Izvestiya Tomskogo politekhnicheskogo universiteta. 2011. № 3. S. 69–74.
5. Gosudarstvennye sudebno-medicinskie ekspertnye uchre-zhdeniya: [Elektronnyj resurs] // Oficial'nyj sajt FGBU «RCSME» Minzdrava Rossii. M. 2010–2017. URL: <http://www.rc-sme.ru/Institutions/>. (Data obrashcheniya: 19.07.2018).
6. Tyurnikov A.P., Salomatin V.E. Primenenie metodiki izmerenij massovoj doli toksichnyh elementov v biolo-gicheskikh obrazcah atomno-absorbicnojj metodom s elektrotermicheskoy atomizaciej i pryamym vvodom prob v toksikologicheskoy ekspertize // 2-ya Mezhdunar. nauchno-praktich. konf. «Sovremennaya himiko-toksikologi-ches-kaya ekspertiza» ASTE'2015. 6–7 oktyabrya 2015 g. M. 2015. S. 1–2.
7. MU 08-47/073 Kolichestvennyj himicheskij analiz prob biologicheskikh ob'ektov (krov', mocha). Metodika vypol-neniya izmerenij massovyh koncentracij kadmiya, svinca i medi metodom inversionnojj vol'tamperometrii. Izdanie vtoroje. S izmeneniem №1: [Elektronnyj resurs] // Oficial'nyj sajt Rosstandarta. Svedeniya ob attes-tovannyh metodikah (metodah) izmerenij. URL: http://www.fund-met-rology.ru/06_metod/2list. (Data obra-shche-niya: 19.07.2018).
8. Bezpalyj Yu.B., Musin E.H., Roman'ko N.A. Rentgenospek-tral'nyj fluorescentnyj analiz: obobshchenie desyatilet-nego prakticheskogo // Sudebnaya me-dicina. 2016. № 2. R. 162–163.
9. Metodika vypolneniya izmerenij sodержaniya kadmiya, svinca, medi i cinka v bioob'ektah (krov', mocha) meto-dom inversionnojj vol'tamperometrii. SPb: OAO NPP «Burevestnik». 2004. 38 s.



Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

Элеутерококк (сухой экстракт, таблетки, покрытые оболочкой) (рег. № № 92/210/3; 92/210/7) – общетонизирующее средство, получаемое из корневищ и корней элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.).

Сабельник болотный (*Comarum palustre*) (экстракт сухой, таблетки, гель) – оказывает противовоспалительное, анальгезирующее действие. Применяется в комплексной терапии воспалительных и дегенеративных заболеваний опорно-двигательного аппарата.

Флакозид (таблетки) (рег. №№ 90/248/3; 90/248/7) – противовирусное и антигепатотоксическое средство, получаемое из листьев бархата амурского и бархата Лавалея (*Phellodéndron amurénse* и *Phellodendron amurense* var. *Lavallei* Sprague). Применяется для лечения вирусных гепатитов.

Эвкалимин (раствор, суппозитории для детей и взрослых) (рег. №№ 90/249/2; 91/194/13; 91/194/12) – антибактериальное и противовоспалительное средство, получаемое из эвкалипта прутовидного (*Eucalyptus viminalis* Labill.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Fax: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru