

УДК 612.46:546.161

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФТОРИДОВ В МОЧЕ**¹Лисецкая Л.Г., ¹Меринов А.В., ^{1,2}Шаяхметов С.Ф.**¹*Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований, Ангарск, e-mail: lis_lu154@mail.ru;*²*Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования, Иркутск*

Усовершенствование методики измерения концентрации фторид-ионов в пробах мочи с целью устранения мешающих влияний и улучшения точности определения. Исследования проб на содержание фторид-ионов выполняли ионоселективным методом. Особенностью предлагаемой методики является устранение матричного эффекта в сложных по составу пробах, что достигается введением в стандартный буферный раствор динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты (Трилон Б). Применение Трилона Б увеличивает степень извлечения на 10% по сравнению с использованием стандартного буферного раствора и обеспечивает степень извлечения вещества на уровне 99,7%. Методом добавок оценена правильность получаемых результатов, что позволило установить оптимальные условия проведения анализа. Впервые определены показатели прецизионности, воспроизводимости и точности методики измерения фторид-иона в пробах мочи. Для диапазона измерений 0,19–40,00 мг/дм³ стандартные отклонения, рассчитанные в условиях повторяемости и воспроизводимости, составляют соответственно 3,76 и 5,2%. Показатель точности измерения не превышает ±11%. Для оценки возможности использования результатов измерения при реализации методики в деятельности конкретной лаборатории рассчитаны значения пределов повторяемости и воспроизводимости. Приведены результаты измерения концентрации фторидов в моче пациентов с различной фтористой нагрузкой. Усовершенствованная методика позволяет производить измерения в диапазоне, перекрывающем измеряемые уровни у лиц с различной техногенной нагрузкой. Впервые рассчитаны показатели прецизионности, воспроизводимости и точности усовершенствованной методики.

Ключевые слова: фторид-ион, моча, количественный анализ, потенциметрический метод, прецизионность, точность

OPTIMIZATION OF METHODOLOGY FOR DETERMINATION OF THE FLUORIDE IN URINE**¹Lisetskaya L.G., ¹Merinov A.V., ^{1,2}Shayakhmetov S.F.**¹*East-Siberian Institution of Medical and Ecological Research, Angarsk, e-mail: lis_lu154@mail.ru;*²*The Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – a branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Irkutsk*

Improvement of the procedure for measuring the concentration of fluoride ions in urine samples in order to eliminate the interfering influences and improve the accuracy of the determination. Studies of samples for the content of fluoride ions were performed by an ion-selective method. A feature of the proposed technique is the elimination of the matrix effect in complex samples, which is achieved by adding to the standard buffer solution the disodium salt of ethylenediaminetetraacetic acid. This procedure increases the recovery rate by 10% compared to the use of a standard buffer solution and provides a recovery level of 99.7%. The correctness of the obtained results was estimated by the method of additives, which allowed to establish the optimal conditions for the analysis. The indicators of precision, reproducibility and accuracy of the fluoride-ion measurement method in urine samples were first determined. For the measuring range 0.19–40.00 mg/dm³, standard deviations calculated under repeatability and reproducibility conditions are 3.76 and 5.2%, respectively. The measurement accuracy index does not exceed ± 11%. To assess the possibility of using measurement results when implementing the methodology in the activity of a particular laboratory, the values of the limits of repeatability and reproducibility are calculated. The results of measurements of fluoride concentrations in the urine of patients with different fluoride loads are presented. The improved technique allows to make measurements in a range overlapping the measured levels in persons with different technogenic loads. Precision, reproducibility and accuracy of the improved methodology were calculated for the first time.

Keywords: fluoride ion, urine, quantitative analysis, potentiometric method, precision, accuracy

Угроза здоровью человека, связанная с загрязнением окружающей среды, является в настоящее время одной из самых актуальных проблем [1, 2]. Для адекватной оценки антропогенной нагрузки наиболее надежным методом является контроль содержания химических соединений в биологических средах [3–5]. В настоящее время данный прием рекомендован экспертами ВОЗ как наиболее доказательный [6].

Фтористые соединения широко применяются в различных отраслях промыш-

ленности. На предприятиях алюминиевой промышленности данный токсикант значительно превышает гигиенические нормы [7, 8]. Ионы фтора постоянно входят в состав организма человека и содержатся главным образом в костной и зубной тканях. При недостатке фторидов у человека развивается кариес зубов, при повышенном поступлении – флюороз. Высокие концентрации ионов фтора опасны ввиду их способности к ингибированию ряда ферментативных реакций, а также к связыва-

нию важных в биологическом отношении элементов (P, Ca, Mg и др.), нарушающему их баланс в организме [9]. Количественная оценка содержания фторид-иона в моче базируется на ионоселективном методе определения, характеризующимся высокой селективностью и чувствительностью метода. Однако в указанной методике не учитываются мешающие влияния. *Ион фтора* образует с некоторыми катионами малодиссоциированные комплексные соединения, а с катионами щелочноземельных металлов – малорастворимые фториды. Пробы мочи содержат значительное содержание минеральных веществ, преимущественно солей кальция и магния. При этом фторид-ионы могут находиться в связанном состоянии, что влияет на результаты измерения.

Целью нашей работы было усовершенствование методики определения фторид-ионов в пробах мочи с целью улучшения точности определения.

Материалы и методы исследования

Исследования выполняли специалисты лаборатории аналитической экотоксикологии и биомониторинга ФБГНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований». Объектами исследования являлись биологическая среда (моча), стандартные растворы фторид-иона, метрологические характеристики измерительного процесса.

Исследования проб на содержание фторид-ионов выполняли ионоселективным методом с использованием иономера Мультигест ИПЛ-211. Градуировочную зависимость строили в координатах: значение

pГрадуировочных растворов, соответствующих отрицательному логарифму концентрации ионов фтора, $-\lg[F^-]$, моль/дм³ – значение потенциала электрода, мВ.

Результаты исследования и их обсуждение

За основу определения была взята методика ионоселективного определения фторид-ионов в моче ионоселективным методом [10]. Для устранения мешающих влияний была использована динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (Трилон Б), обладающая способностью превращать нерастворимые соли кальция и магния в растворимые путем извлечения ионов металла из солей и замещения их на ионы натрия, соли которого растворимы и легко определяются.

Правильность результатов оценивали методом добавок. В качестве добавки использовался раствор, содержащий 0,4 мг фторид-иона (табл. 1).

Материалы исследований показали, что лучшие результаты достигнуты при добавлении в буферный раствор Трилона Б в концентрации 0,025 М. Для оценки степени извлечения добавки провели эксперимент с различной величиной добавки (табл. 2).

Как видно из табл. 2, степень извлечения добавки при использовании стандартного буферного раствора составляет 91,1–91,9%, в то время как применение Трилона Б увеличивает степень извлечения в среднем на 10%.

Таблица 1

Результаты анализ проб мочи с различным составом буферного раствора

Состав буферного раствора	Величина введенной добавки, мг	Величина найденной добавки, мг	Степень извлечения добавки, %
Буфер БРОИС	0,4	0,37 ± 0,002	92,5 ± 0,4
Буфер БРОИС + Трилон Б (0,001М)	0,4	0,384 ± 0,001	95,6 ± 0,6
Буфер БРОИС + Трилон Б (0,025М)	0,4	0,406 ± 0,001	100,4 ± 0,4
Буфер БРОИС + Трилон Б (0,033М)	0,4	0,385 ± 0,002	96,2 ± 0,5
Буфер БРОИС + Трилон Б (0,05М)	0,4	0,385 ± 0,003	96,2 ± 0,7

Таблица 2

Результаты анализа проб мочи с различной величиной добавки

Состав буферного раствора	Величина введенной добавки, мг	Величина найденной добавки, мг	Степень извлечения добавки, %
Буфер БРОИС	0,025	0,023 ± 0,0003	92,0 ± 1
Буфер БРОИС + Трилон Б (0,025М)	0,025	0,025 ± 0,0006	100,4 ± 2,4
Буфер БРОИС	0,1	0,091 ± 0,001	91,2 ± 1
Буфер БРОИС + Трилон Б (0,025М)	0,1	0,101 ± 0,001	100,1 ± 1,4
Буфер БРОИС	0,2	0,18 ± 0,002	91,4 ± 1,1
Буфер БРОИС + Трилон Б (0,025М)	0,2	0,2 ± 0,002	100,1 ± 1
Буфер БРОИС	0,5	0,46 ± 0,005	91,9 ± 0,9
Буфер БРОИС + Трилон Б (0,025М)	0,5	0,49 ± 0,01	99,8 ± 0,9

Таблица 3
Метрологические характеристики усовершенствованной методики измерения концентрации фторид-иона в моче

Показатели	Рассчитанные значения
Диапазон измерений, мг/дм ³	0,19-40,00
Стандартное отклонение повторяемости, σ_r , %	3,76
Пределы повторяемости, r	10,5
Стандартное отклонение воспроизводимости, σ_R , %	5,26
Пределы воспроизводимости, R	14,7
Показатель точности, $\pm\delta$, %	11

Таблица 4
Содержание фторид-иона в моче населения Иркутской области

Категория обследованных лиц	Количество проб	Концентрация фторид-иона в моче $M \pm m$ (min-max), мг/дм ³
Дети	165	0,67 \pm 0,14 (0,45–0,74)
Взрослое население	35	0,65 \pm 0,17 (0,46–3,21)
Стажированные работники	32	1,83 \pm 0,12 (0,85–4,67)
Пациенты с ПЗ в постконтактном периоде до 5 лет	23	1,69 \pm 0,14 (0,52–2,95)
Пациенты с ПЗ в постконтактном периоде 5–10 лет	29	1,48 \pm 0,1 (0,57–2,77)
Пациенты с ПЗ в постконтактном периоде 10 лет и более	7	1,29 \pm 0,17 (0,83–2)

В ходе разработки методики впервые были рассчитаны основные метрологические характеристики – показатели прецизионности и точности (табл. 3).

Представленные значения пределов повторяемости и воспроизводимости характеризуют параметры методики, при которых полученные результаты будут признаны приемлемыми. Экспериментальная оценка показала, что для всего диапазона концентраций средняя полнота извлечения составляет 99,7%. При соблюдении всех регламентированных условий проведения анализа погрешность результатов измерений при доверительной вероятности $P = 0,95$ не превышает 11%.

Несмотря на многочисленные публикации, касающиеся токсичности фтористых соединений и влияния их на состояние здоровья при профессиональном и экологическом воздействии, публикаций по методологии проведения биомониторинга фторидов крайне мало. В отечественных руководствах существует уже упоминавшаяся методика, основанная на ионоселективном измерении. А.Г. Колесник с соавторами [11], была сделана попытка модифицировать данную методику. Однако модификация заключалась в увеличении числа определений и усреднении результатов, что уменьшает коэффициент вариации, но не влияет на точность определения. Следует сказать, что ни отечественная, ни зарубежная методика не учитывают мешающее влияние

состава матрицы. Кроме того, отсутствуют показатели прецизионности и точности для внутреннего и внешнего контроля качества проводимых измерений, что в настоящее время является необходимым условием для всех лабораторий [12]. Кроме того, методические приемы, положенные в основу метода определения, должны быть доступными, недорогими и индикативными. Представленные нами материалы по модификации методики развивают нормативно-методическую базу исследований и приводят ее в соответствие с современными требованиями.

В ходе апробации методики были проведены исследования населения Иркутской области, подвергающегося воздействию фтористых соединений в различной степени. Содержание фторид-ионов в моче определяли у детей и взрослых, проживающих в промышленных центрах, и у поступивших в стационар работников алюминиевого производства Иркутской области с профессиональными заболеваниями (ПЗ) (табл. 4).

Как видно из данных табл. 4, у стажированных работников (стаж работы более 10 лет), продолжающих трудовую деятельность, содержание фторид-иона в моче колебалось в пределах от 0,85 до 4,67 мг/дм³, а у не работающих пациентов с профессиональным хроническим токсико-пылевым бронхитом и профессиональной хронической интоксикацией соединениями фтора – от 0,52 до 2,95 мг/дм³. У обследованных ста-

жированных работников, продолжающих трудовую деятельность, и у 30% неработающих работников алюминиевого производства содержание фторидов в моче превышало региональные уровни для взрослого населения. Элиминация фторид-иона продолжается и после окончания воздействия. По данным О.Ф. Рослого с соавторами [13], концентрация фторидов в моче работников Екатеринбургского алюминиевого завода в среднем составляет 2 мг/дм³. Детское население Иркутской области характеризуется сравнительно узким диапазоном содержания фторидов (табл. 4), в то время как в Пермском крае региональный уровень содержания фтора в моче детского населения составляет 0,32–1,32 мг/дм³ [14]. Таким образом, усовершенствованная нами методика позволяет производить измерения в диапазоне, перекрывающем указанные уровни, и может быть использована для оценки комплексной антропогенной нагрузки на территории при проведении санитарно-гигиенического мониторинга.

Заключение

Экспериментальные исследования показали, что применение Трилона Б, добавление Трилона Б снижает мешающее влияние матричных катионов и позволяет улучшить точность определения фторид-иона в пробах мочи, увеличивая степень извлечения определяемого компонента в среднем на 10%. Нами установлены оптимальные условия проведения измерений. Диапазон определяемых концентраций составляет 0,19–40,0 мг/дм³. Усовершенствованная методика позволяет производить оценку содержания фторид-ионов в моче у лиц с различной техногенной нагрузкой. Впервые рассчитаны показатели прецизионности, воспроизводимости и точности методики, которые в соответствии с современными требованиями необходимо использовать при оформлении результатов измерений и оценке деятельности лабораторий на качество проведения измерений при реализации методики измерений.

Список литературы

1. Онищенко Г.Г. Окружающая среда и состояние здоровья населения. Экологическая доктрина России в контексте общенациональной стратегии устойчивого развития // Гигиена и санитария. 2001. № 3. С. 3–10.
2. Бобровицкий И.П., Яковлев М.Ю., Нагорнев С.Н., Худов В.В., Скальный А.В., Рахманин Ю.А. Научные и организационно-методические основы реализации приоритетных проектов медицины окружающей среды как интегративного профилактического направления медицинской науки и практического здравоохранения // Микроэлементы в медицине. 2017. № 2. С. 3–9.
3. Борисова. Е.Я., Иванова Г.Ф., Калетина Н.И., Мишихин В.А., Симонов Е.А., Скальная М.Г., Скальный А.В., Смирнов А.В., Чукарин А.В. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов: учебное пособие. М.: ГЭОТАР_Медиа, 2008. 1016 с.
4. Элементный статус населения России. Часть 1. Общие вопросы и современные методические подходы к оценке элементного статуса индивидуума и популяции / Под ред. А.В. Скального, М.Ф. Киселева. СПб.: Медкнига «ЭЛБИ_СПб», 2010. 415 с.
5. Измеров Н.Ф., Денисов Э.И., Прокопенко Л.В., Сивочалова О.В., Степанян И.В., Челищева М.Ю., Чесалин П.В. Методология выявления и профилактики заболеваний, связанных с работой // Медицина труда и промышленная экология. 2010. № 9. С. 1–7.
6. Гилева О.В., Уланова Т.С., Вейхман Г.А., Недоштова А.В., Стенно Е.В. Методическое обеспечение определения токсичных и эссенциальных элементов в биологических средах человека для задач социально-гигиенического мониторинга и биомедицинских исследований // Гигиена и санитария. 2016. № 1. С. 116–121.
7. Шаяхметов С.Ф., Лисецкая Л.Г., Меринов А.В. Оценка токсико-пылевого фактора в производстве алюминия (аналитический обзор) // Медицина труда и промышленная экология. 2015. № 4. С. 30–35.
8. Медицина труда при электролитическом получении алюминия / Под ред. О.Ф. Рослого. Екатеринбург, 2011. 160 с.
9. Оберлиз Д., Харланд Б.Ф., Скальный А.В. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных. СПб.: Наука, 2008. 544 с.
10. МУК 4.1.773-99. Количественное определение ионов фтора в моче с использованием ионселективного электрода. М.: Минздрав России, 2000. 8 с.
11. Колесник А.Г., Капустин А.М., Кулаженко Т.В., Житков М.Ю., Серебренникова Л.Е., Степанова И.А., Серебренникова В.Г. Мониторинг экскреции фторида с мочой с использованием отечественных фторидселективного электрода и иономера. Нормы для регионов с различной обеспеченностью фторидом, усовершенствованная медицинская технология № ФС-2006/018-У // Институт стоматологии. 2007. № 2. С. 68–71.
12. Терещенко А.Г., Пикула Н.П., Толстихина Т.В. Внутривлабораторный контроль качества результатов анализа с использованием лабораторной информационной системы. Бинном, 2012. 315 с.
13. Рослый О.Ф., Лихачева Е.И., Вагина Е.Р. Медицина труда при электролитическом получении алюминия. Екатеринбург: Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий, 2011. 160 с.
14. Здоровье населения и окружающая среда: методическое пособие: раздел в системе «Социально-гигиенического мониторинга». М., 2004. Выпуск 3. Часть 3 (2). С. 272–273.