



کاربرد روش استخراج فاز جامد و جاذب XAD-4 جهت تعیین مقدار کادمیوم در نمونه های مو و ناخن کارگران یک صنعت فلزی

منیره خادم^۱، سید جمال الدین شاه طاهری^۲، فریده گلبابایی^۳، عباس رحیمی فروشانی^۴

تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۷/۲۸

تاریخ ویرایش: ۹۳/۰۶/۰۱

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۲/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: کادمیوم یکی از آلاینده های مهم صنعتی بوده و می تواند بر روی کلیه و دستگاه تنفسی اثرات زیان آوری اعمال نماید. این فلز به عنوان یک عامل سرطانزا در انسان طبقه بندی شده است. پایش بیولوژیکی و اندازه گیری کادمیوم در نمونه های ادرار، خون، مو و ناخن به ارزیابی دوز داخلی این فلز و سنجش دقیق مواجهه ناشی از منابع و راههای تماس مختلف کمک می نماید. به دلیل غلظت بسیار پایین ترکیبات در نمونه های بیولوژیکی و وجود عوامل مداخله کننده در این نمونه ها، روش های مناسب و معتبر آماده سازی نمونه به منظور تغلیظ و تخلیص آنها ضروری به نظر می رسد. هدف از این مطالعه استفاده از استخراج فاز جامد توسط جاذب XAD-4 جهت تغلیظ و تخلیص نمونه های مو و ناخن کارگران شاغل در یک صنعت فلزی در شهر زنجان به منظور تعیین مقدار کادمیوم می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه فرایند استخراج کادمیوم توسط ستون های پر شده با جاذب XAD-4 جهت آماده سازی، تغلیظ و تخلیص نمونه های بیولوژیکی استفاده گردید. در این راستا متغیرهای مؤثر بر روش مذکور بهینه سازی شده و دقت، صحت و تکرار پذیری روز به روز و در طول یک روز آن با استفاده از نمونه های با غلظت پایین، متوسط و بالای فلز مورد نظر تأیید گردید. پس از استخراج فلز کادمیوم از نمونه های واقعی مربوط به کارگران، تعیین غلظت این فلز توسط روش ولتامتری انجام شد.

یافته ها: طی انجام این مطالعه، فاکتورهای مؤثر بر روش استخراج با استفاده از فاز جامد بهینه سازی شده و مقادیر مطلوب با کارایی بالا بدست آمد. به دنبال بهینه سازی روش استخراج، کادمیوم با راندمان بیشتر از ۹۲ درصد از روی جاذب XAD-4 بازیافت گردید. غلظت کادمیوم در نمونه های مو و ناخن به ترتیب ۹۸/۲۵ و ۱۸۶/۸۲ میکروگرم بر گرم بدست آمد که بالاتر از ماکزیمم مقدار توصیه شده توسط سازمان جهانی بهداشت (۱۰ میکروگرم بر گرم) می باشد.

نتیجه گیری: استخراج فاز جامد توسط رزین XAD-4 روشی مناسب و ساده برای آماده سازی نمونه های بیولوژیکی بوده و با توجه به غلظت پایین آنالیت و وجود عوامل مداخله کننده ی موجود در این گونه نمونه ها (بویژه مو و ناخن)، می تواند در تخلیص و تغلیظ آنها مؤثر واقع گردد. در این مطالعه کاربرد روش مذکور در ارزیابی های شغلی و پایش بیولوژیک مورد تأیید قرار گرفت.

کلیدواژه ها: استخراج فاز جامد، پایش بیولوژیکی، کادمیوم، مو، ناخن.

مقدمه

تولید باتری های نیکل کادمیوم، تولید آفت کش ها و نیز در صنایع فلزی با آن در معرض مواجهه می باشند. مواجهه های غیر شغلی نیز به دلیل ورود کادمیوم در خاک و سپس زنجیره ی غذایی امکان پذیر می باشد. مصرف دخانیات نیز منبع مهم مواجهه با این فلز است. کشیدن سیگار می تواند منجر به افزایش غلظت کادمیوم در کلیه ها گردد که مهم ترین اندام هدف برای سمیت این فلز بشمار می آیند. در مواجهه های شغلی با کادمیوم

فلزات سنگین گروهی از عناصر با خواص فلزی هستند که برخی از آنها مانند آهن، مس، کروم و منگنز جزء عناصر مورد نیاز برای بدن انسان محسوب می گردند. یکی از فلزات سنگین که سمیت قابل توجهی در انسان ایجاد می نماید کادمیوم می باشد. این فلز به عنوان یک آلاینده ی محیطی و صنعتی مورد توجه بوده و کارگران در فرایندهای صنعتی مختلفی مانند آبکاری،

۱- دانشجوی دکترای بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۲- نویسنده مسئول) دکترای بهداشت حرفه ای، استاد دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. shahataheri@sina.tums.ac.ir

۳- دکترای بهداشت حرفه ای، استاد دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴- دکترای آمار زیستی، دانشیار دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

سیال فوق بحرانی^۲ (SFE) و استخراج فاز جامد^۳ (SPE) اشاره نمود. برخی از روش ها به دلیل زمان بر بودن و یا تکرار پذیری نه چندان مناسب در راندمان استخراج، کمتر مورد استفاده قرار می گیرند و روش های حساستر و تکرار پذیری مانند روش استخراج با استفاده از فاز جامد جایگزین آنها شده است. این روش در واقع جذب سطحی یک ترکیب شیمیایی از یک نمونه ی مایع روی یک جاذب جامد و به دنبال آن بازیافت ترکیب جذب سطحی شده از روی جاذب توسط یک حلال مناسب می باشد. در این راستا، جداسازی و تخلیص ترکیب مورد نظر در یک مدت کوتاه و توسط حجم کمی از حلال (مورد استفاده در مرحله ی شویش آنالیت از روی جاذب) امکان پذیر می گردد. همچنین در طول مراحل استخراج، تغلیظ ترکیب شیمیایی نیز صورت می گیرد. جاذب های فراوانی با قیمت مناسب از نظر تجاری برای این منظور در دسترس بوده که راندمان کافی را فراهم می نمایند. بسته به نوع و ماهیت آنالیت، مداخله گرهای احتمالی و محیط نمونه جاذب های مختلف وجود دارد و با انتخاب مناسب می توان گزینش پذیری روش را بهبود بخشید [۹، ۱۱-۱۵].

استفاده از روش های آماده سازی مناسب که دارای حساسیت، دقت و صحت بالایی در استخراج فلزات سنگین از نمونه ها باشند در بهداشت حرفه ای و محیط بسیار مورد توجه قرار می گیرند. مواجهه ی پیوسته با سطوح کم مقدار منجر به تجمع زیستی و اثرات زیان آور بهداشتی می شود. همانگونه که مطالعات مختلف نشان داده اند پایش بیولوژیکی از بهترین راه های تعیین مواجهه با بسیاری از ترکیبات شیمیایی از جمله فلزات سنگین در محیط کار می باشد و می تواند به عنوان مکمل پایش هوا بکار گرفته شود. فلزات سنگین در سیالات بیولوژیک مانند خون و ادرار قابل تشخیص هستند و برخی از آنها در مقادیر بسیار کمتری در مو و ناخن افراد مواجهه یافته نیز تجمع کرده و بنابراین

معمولا سمیت مزمن مورد توجه می باشد که در آن بیشتر کلیه، ریه و بافت اسکلتی تحت تأثیر قرار می گیرند. کادمیوم توسط سازمان بین المللی تحقیقات روی سرطان (IARC) به عنوان سرطان زای انسانی طبقه بندی شده و در گروه یک قرار می گیرد. مواجهه با این فلز می تواند منجر به سرطان در ریه، پروستات، کلیه و معده گردد. حد مجاز مواجهه با کادمیوم ۰/۰۱ میلی گرم بر متر مکعب می باشد [۱-۵].

با توجه به مطالعات مختلف، کادمیوم در مواجهه های بلند مدت می تواند اثرات منفی و زیان آوری را بر سلامتی کارگران ایجاد نماید. محققین راهکار های مختلفی را برای سنجش محیطی و صنعتی کادمیوم، بررسی اثرات آن و کاهش مواجهه ی فردی و نیز کاهش انتشار محیطی آن ارائه نموده اند [۲، ۶]. به دلیل غلظت پایین و گاهی بسیار پایین آنالیت ها در نمونه های بیولوژیکی و محیطی، مشکلاتی در تعیین مقدار آنها وجود دارد؛ بنابراین روش های حساس و گزینش پذیر جهت تشخیص و تعیین مقدار آنالیت ها در سطوح کم مقدار در نمونه های مختلف ضروری به نظر می رسند [۳، ۷، ۸].

اگرچه استفاده از سیستم های تشخیصی و دستگاه های آنالیز مدرن در برخی روش ها، قدرت گزینش پذیری و حساسیت های روش های تعیین مقدار را بهبود بخشیده اند، این روش ها معمولا گرانقیمت بوده و در اغلب آزمایشگاه ها در دسترس نمی باشند. در نتیجه، گسترش روش های آماده سازی نمونه قبل از تعیین مقدار آن منجر به ساده سازی آنالیز و کاهش هزینه های آن شده، حساسیت و گزینش پذیری را افزایش داده و انجام آنالیز در آزمایشگاه های معمولی را نیز امکان پذیر می نماید [۷، ۹، ۱۰].

روش های متنوعی برای آماده سازی نمونه و به منظور استخراج فلزات سنگین از نمونه های مختلف (محیطی و بیولوژیکی) مورد استفاده قرار گرفته اند که از جمله می توان به استخراج مایع مایع^۱ (LLE)، استخراج

^۲ Supercritical Fluid Extraction

^۳ Solid Phase Extraction

^۱ Liquid-Liquid Extraction

کوچک شیشه ای (۱۰×۱۰×۱۰ میلیمتر) با ۵۰۰ میلی گرم رزین XAD-4 پر شدند. این رزین یک جاذب پلیمری غیر یونی با ساختار پلی استیرن-دی وینیل بنزن و به شکل پودر سفید رنگ می باشد. جهت تثبیت رزین در ستون، دو طرف آن قطعه های پشم شیشه قرار گرفت. رزین قبل از قرار گرفتن در ستون به ترتیب توسط متانول، آب، اسید نیتریک ۱ مولار، آب، سود ۱ مولار و آب شسته شد. در نهایت و قبل از شروع آزمایشات، رزین توسط محلول بافر با pH مورد نظر آماده گردید.

بهینه سازی متغیرهای مؤثر در فرایند

استخراج: در این مطالعه قبل از استفاده از روش استخراج فاز جامد بهینه سازی شده جهت آماده سازی نمونه های بیولوژیکی، متغیرهای تأثیر گذار بر جذب و بازیافت آنالیت مورد نظر در فرایند آماده سازی بهینه سازی شدند. متغیرهای pH نمونه، دبی عبور نمونه از روی جاذب، دبی شویش، حلال شویش، حجم حلال شویش، غلظت لیگاند (عامل کمپلکس کننده)، مقدار رزین و حجم نمونه در سطوح مختلف مورد آزمایش قرار گرفته و سطح بهینه برای هر متغیر انتخاب گردید. روش انجام آماده سازی بدین ترتیب بود که ابتدا نمونه هایی با غلظت مشخص از ستون حاوی جاذب عبور داده شدند. پس از آن شستشو با یک محلول بافری انجام شد و سپس در مرحله ی شویش، یون های فلزی جذب شده روی جاذب از ستون جدا گردید. در نهایت، غلظت فلز در محلول بدست آمده از مرحله ی شویش تعیین گردید. جهت بهینه سازی هر متغیر با توجه به تعداد سطوح آن و با در نظر گرفتن ۵ بار تکرار، تعداد ۲۰ تا ۲۵ نمونه در نظر گرفته شد. در کل ۱۶۵ نمونه برای آزمایشات بهینه سازی و ۳۶ نمونه برای تعیین تکرارپذیری روش مورد آزمایش قرار گرفت.

جمع آوری نمونه های بیولوژیکی: نمونه های مو و ناخن ۱۵ نفر از کارگران صنایع فلزی در یکی از استان های کشور به طور تصادفی جمع آوری گردید. هر نمونه ناخن درون یک پاکت پلاستیکی و هر نمونه مو درون یک پاکت کاغذی قرار گرفته و درب آنها کاملاً بسته شد. بدین منظور ابتدا به منظور آگاهی کارگران و حضور

این واسطه های بیولوژیکی نیز قابل ردیابی می باشند. مزیت نمونه ناخن عدم نیاز به شرایط نگهداری خاص می باشد. مو نیز به دلیل شرایط نگهداری و انتقال ساده و اینکه می تواند اطلاعات تماس های بلند مدت را فراهم نماید جهت پایش بیولوژیکی با سایر بافت ها و سیالات بدن قابل مقایسه بوده و مورد توجه قرار می گیرد. با وجود پیشرفت های فراوان در آنالیز نمونه ها، مطالعات کمتری به اندازه گیری آنالیت ها در نمونه های مو و ناخن پرداخته اند و در این زمینه تحقیقات بیشتر ضروری به نظر می رسند [۱۶، ۱۷].

هدف از این مطالعه کاربرد جاذب XAD-4 در روش استخراج فاز جامد بهینه سازی شده جهت آماده سازی نمونه های مو و ناخن جمع آوری شده از کارگران یک صنعت فلزی در تعیین غلظت کادمیوم می باشد.

روش بررسی

مواد شیمیایی و معرف ها: محلول مادر کادمیوم با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر از حل کردن مقدار مناسب نمک نترات کادمیوم تتراهیدرات (شرکت مرک، آلمان) و با استفاده از اسید نیتریک ۰/۰۱ مولار آماده گردید. محلول های استاندارد کاری به طور روزانه با رقیق سازی محلول مادر تهیه شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در مطالعه نظیر اسیدها، استون، محلول های بافری، عامل کمپلکس کننده ی آمونیوم پیرولیدین دی تیو کاربامات (APDC) و رزین آمبرلیت XAD-4 (مش ۴۰-۲۰) نیز از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

دستگاه ها: تعیین مقدار کادمیوم با روش الکتروشیمیایی (ولتامتری) توسط دستگاه پلاروگراف Metrohm 757 VA Computrace ساخت شرکت Metrohm سوئیس انجام گردید. میزان pH محلول ها بوسیله ی pH متر دیجیتالی مدل Metrohm 744 ساخت کشور سوئیس اندازه گیری شده و جهت توزین مواد از ترازوی دیجیتالی Sartorius CP225D ساخت کشور آلمان استفاده شد.

آماده سازی ستون حاوی فاز جامد: ستون های

حلال شویش بهینه) بود. در نهایت غلظت کادمیوم در نمونه های بدست آمده در مرحله ی شویش تعیین گردید. شایان ذکر است که قبل از عبور نمونه ها از روی جاذب، pH نمونه در مقدار بهینه تنظیم شده و عامل کمپلکس کننده با غلظت مشخص به آنها اضافه گردید.

یافته ها

اثر متغیرهای مختلف بر راندمان استخراج کادمیوم:

جهت بررسی اثر متغیرهای مختلف بر راندمان جذب و بازیافت آنالیت از ستون حاوی جاذب، نمونه هایی با غلظت مشخص (۰/۴ پی پی ام) و در حجم ۵۰ میلی لیتر ساخته شد. جهت تنظیم pH نمونه ها از محلول های بافری استفاده گردید و همچنین به منظور فراهم کردن گروه های عاملی برای جذب سطحی، عامل کمپلکس کننده (APDC) با غلظت مشخص به نمونه ها افزوده شد. سپس مراحل استخراج با استفاده از فاز جامد برای هر نمونه انجام شده و فلز کادمیوم استخراج شده تعیین مقدار گردید. در نهایت با توجه به مشخص بودن غلظت اولیه محلول، راندمان بازیافت محاسبه گردید. جداول ۱ و ۲ اثر فاکتورهای مختلف بر

داوطلبانه ی آنها در پژوهش، فرم رضایت نامه تهیه شده توسط کمیته اخلاق در پژوهش معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران در اختیار آنها قرار گرفت. سپس نمونه ها اخذ شده و اطلاعات فردی و همچنین موارد لازم در مورد شرایط کاری و مواجهه ی آنها یادداشت گردید. به دلیل وجود کادمیوم در دخانیات، جهت حذف عوامل مخدوش کننده، افراد سیگاری در این پژوهش شرکت داده نشدند.

آماده سازی نمونه های بیولوژیکی: نمونه های مو و ناخن ابتدا وزن شده و پس از شستشوی اولیه توسط روش هضم اسیدی جهت دستیابی به محلول قابل اندازه گیری آماده شدند [۱۸، ۱۹]. به دلیل غلظت بسیار پایین فلزات در نمونه های بیولوژیکی و نیز وجود عوامل مداخله کننده ی فراوان در آنها، روش استخراج فاز جامد بهینه سازی شده به منظور تغلیظ و تخلیص نمونه های حاصل از هضم اسیدی مو و ناخن مورد استفاده قرار گرفت. مراحل استخراج با استفاده از فاز جامد شامل عبور نمونه ها با حجم مشخص از روی ستون حاوی جاذب، شستشوی ستون با محلول بافری و سپس شویش آنالیت ها از روی جاذب توسط اسید نیتریک

جدول ۱- اثر pH نمونه، غلظت لیگاند، نوع و حجم حلال شویش بر بازیافت یون کادمیوم از روی جاذب XAD-4 (حلال شویش: 2M HNO₃)

pH	± میانگین (%) SD	غلظت لیگاند [w/v (%)]	± میانگین (%) SD	نوع حلال شویش	± میانگین (%) SD	حجم حلال شویش (ml)	± میانگین (%) SD
۲	۴/۴۷±۸۲	۰/۰۱	۴/۴۷±۵۲	1M HCL	۵/۴۷±۱۴	۵	۵/۴۷±۲۶
۴	۵/۴۷±۸۴	۰/۰۳	۴/۴۷±۷۸	Acetone	۴/۴۷±۴۲	۱۰	۴/۴۷±۵۷
۷	۵/۴۷±۸۶	۰/۰۵	۰/۰۰±۱۰۰	(HNO ₃ in Acetone)	۴/۴۷±۹۸	۱۵	۲/۱±۹۵/۳۸
۹	۴/۴۷±۹۸	۰/۰۷	۴/۴۷±۹۸	1M HNO ₃	۴/۴۷±۹۸	۲۰	۴
				2M HNO ₃	۰/۰۰±۱۰۰		۵/۴۷±۹۶

جدول ۲- اثر دبی حلال شویش، حجم نمونه، دبی عبور نمونه و مقدار جاذب بر بازیافت یون کادمیوم از روی جاذب XAD-4 (حلال شویش: 2M HNO₃)

دبی حلال شویش (ml/min)	± میانگین (%) SD	حجم نمونه (ml)	± میانگین (%) SD	دبی نمونه (ml/min)	± میانگین (%) SD	مقدار جاذب (mg)	± میانگین (%) SD
۲	۴/۴۷±۹۸	۵۰	۰/۰۰±۱۰۰	۲	۴/۴۷±۹۸		
۵	۵/۴۷±۹۶	۱۵۰	۴/۴۷±۹۸	۵	۵/۴۷±۹۶	۱۰۰	۴/۴۷±۵۸
۷	۵/۴۷±۹۴	۲۵۰	۵/۴۷±۹۶	۷	۵/۴۷±۹۶		
۱۰	۴/۴۷±۸۸	۵۰۰	۵/۴۷±۹۶	۹	۰/۰۰±۹۰	۵۰۰	۴/۴۷±۹۸
		۷۵۰	۴۷±۶۸				

جدول ۳- تکرار پذیری روز به روز (D-day) و در طول روز (W-day) یون کادمیوم اسپایک شده در ادرار (حجم نمونه: ۵۰ ml، تعداد نمونه: ۶)

غلظت اضافه شده (µg/ml)						داده های آماری
۲		۱/۵		۱		
W-day	D-day	W-day	D-day	W-day	D-day	میانگین
۱/۹۱۶	۱/۹۰۶	۱/۴۵۲	۱/۴۲	۰/۹۷۶	۰/۹۳۷	
۰/۸۳	۱/۰۳۳	۰/۸۳۰	۰/۹۸۳	۰/۱۶	۱/۰۳۳	انحراف استاندارد (SD)
۰/۸۶	۱/۰۷	۰/۸۵	۱/۰۱	۰/۱۷	۱/۰۶	ضریب تغییرات (CV%)

D-day: Day to Day Reproducibility; W-day: Within Day Reproducibility

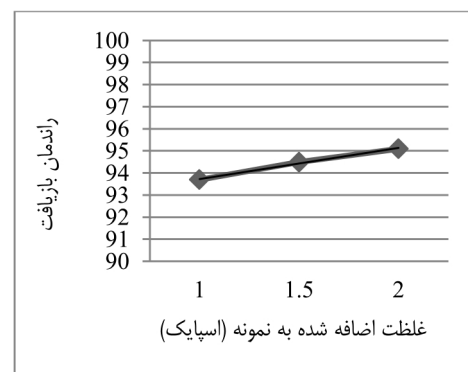
جدول ۴- غلظت کادمیوم در نمونه های مو و ناخن در کارگران صنعت فلزی

کادمیوم در مو (µg/g)	کادمیوم در ناخن (µg/g)
میانگین ± SD	میانگین ± SD
۴۳/۲۳ ± ۹۸/۲۵	۹۶/۴۶ ± ۱۸۶/۸۲
(تعداد نمونه: ۱۵)	(تعداد نمونه: ۱۵)

راندمان جذب و بازیافت را نشان می دهند. پس از انجام آزمایشات برای متغیرها، مقادیر بهینه بدین ترتیب انتخاب گردید: pH برابر با ۹، غلظت لیگاند ۰/۰۵ درصد، اسید نیتریک ۲ مولار به عنوان حلال شویش، حجم ۱۵ میلی لیتر برای حلال شویش، دبی عبور نمونه و حلال شویش ۵ میلی لیتر در دقیقه، وزن جاذب ۵۰۰ میلی گرم، حجم نمونه تا ۵۰۰ میلی لیتر. با توجه به حجم بهینه ی بدست آمده برای نمونه و حلال شویش فاکتور تغلیظ برابر با ۳۳/۳ محاسبه گردید. بنابراین روش بهینه شده می تواند آنالیت موجود در نمونه ها را تا ۳۳/۳ برابر تغلیظ نماید. علاوه بر متغیرهای نامبرده، اثر عوامل مداخله کننده یا اصطلاحاً اثر ماتریکس نیز بر

راندمان مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی یون های مختلفی مانند Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ و SO_4^{2-} نمک آنها در غلظت های مشخص به نمونه ها اضافه گردید، سپس مراحل استخراج انجام شده و غلظت کادمیوم تعیین گردید. سدیم تا حدود ۲۰ g/l و سایر یون ها تا حدود ۱ g/l اثر مداخله کننده ای بر جذب کادمیوم روی جاذب نداشتند، اما با افزایش غلظت یون ها، راندمان رو به کاهش گذاشت.

تکرار پذیری: از آنجا که در ادرار عوامل مداخله کننده فراوان است و می تواند مشابه بسیاری از نمونه های واقعی در نظر گرفته شود برای تعیین تکرار پذیری و معتبر سازی روش بهینه شده انتخاب شد. نمونه های ادرار از افراد مواجهه نیافته جمع آوری شده و کادمیوم با سه غلظت مشخص ۱، ۱/۵ و ۲ میکروگرم در میلی لیتر به آنها اضافه شد (spike). منحنی های استاندارد خطی مربوط به غلظت های استخراج شده هر روز و به مدت شش روز با ضریب همبستگی ۰/۹۹۵ یا بزرگتر بدست آمدند. شکل ۱ منحنی مربوط به تکرار پذیری روز به روز را نشان میدهد. منحنی مشابهی نیز برای تکرار پذیری در طول روز بدست آمد. تکرار پذیری روز به روز و در طول روز به تعداد شش بار برای روش مورد بررسی قرار گرفت که نتایج مربوطه در جدول ۳ مشاهده می شود.



شکل ۱- منحنی استاندارد خطی برای راندمان بازیافت غلظت های اضافه شده به ادرار جهت تعیین تکرار پذیری روز به روز

سطح بهینه در طول استخراج انتخاب گردید. در انتخاب شرایط مناسب برای بدست آوردن راندمان استخراج بالا و کارآمد، آگاهی از شیمی ترکیبات مورد آنالیز مانند قابلیت یونیزاسیون و آب گریزی آنها می تواند مفید واقع گردد. شویس ترکیباتی که به مقدار زیادی یونی هستند سخت تر بوده و این مسئله ممکن است منجر به بازیافت ضعیف آنها از سطح جاذب گردد. بنابراین انتخاب حلال شویس مناسب از اهمیت بالایی برخوردار می باشد. در بین حلال های آزمایش شده در این مطالعه، اگر چه سه حلال مورد استفاده راندمان بازیافت بالایی را فراهم کردند (جدول ۱)، $2M HNO_3$ به عنوان حلال بهینه برگزیده شد، زیرا راندمان بازیافت هنگام کاربرد آن ۱۰۰ درصد بدست آمد و همچنین یک حلال غیر آلی بوده، خطر مواجهه با بخارات حلال های آلی را حذف می نماید و از شویس احتمالی ترکیبات آلی موجود در نمونه های واقعی نیز پیشگیری می گردد. در بین حجم های شویس آزمایش شده، پایین ترین حجم از $2M HNO_3$ که راندمان بازیافت بالا (۹۵٪) را مقدور می نماید، حجم ۱۵ میلی لیتر است. هر چه قدرت شویس حلال بالاتر باشد حجم کمتری از آن قادر است به طور کارآمد آنالیت ها را شویس نماید. شایان ذکر است که مقدار جاذب موجود در ستون نیز در این زمینه مؤثر بوده و افزایش آن باعث افزایش حجم حلال مورد نیاز خواهد شد. هر چه حجم حلال کمتر باشد فاکتور تغلیظ بالاتری در فرایند استخراج حاصل خواهد شد. علاوه بر این، حجم کمتر می تواند به کاهش زمان کلی فرایند نیز منجر گردد. در بین چندین دبی مورد آزمایش اگر چه دبی های ۲ تا ۷ میلی لیتر در دقیقه راندمان بازیافت بالایی را مقدور می کردند، به دلیل افزودن بر سرعت فرایند و کاهش زمان کلی آزمایشات، دبی ۵ میلی لیتر در دقیقه به عنوان سطح مناسب و مطمئن انتخاب گردید (جدول ۲). جهت تعیین تأثیر حجم نمونه بر راندمان استخراج، حجم های ۵۰ تا ۷۵۰ میلی لیتر مورد بررسی قرار گرفت. از آنجایی که در آزمایشات بهینه سازی مقدار ثابتی از آنالیت به نمونه ها اضافه می شد، با افزایش حجم نمونه غلظت محلول کاهش می

نتایج مربوط به نمونه های واقعی: پس از بهینه سازی و معتبر سازی، روش استخراج فاز جامد برای تغلیظ و تخلیص نمونه های مو و ناخن جمع آوری شده از صنعت، مورد استفاده قرار گرفت. نمونه های آماده شده از روی ستون حاوی جاذب XAD-4 عبور داده شدند و پس از شویس توسط اسید نیتریک ۲ مولار، کادمیوم موجود در آنها با روش الکتروشیمیایی مورد نظر تعیین مقدار گردید. جدول ۴ نتایج مربوط به اندازه گیری کادمیوم در نمونه های مو و ناخن را نشان میدهد.

بحث و نتیجه گیری

طبق نتایج، برای یون کادمیوم (II) در pH نمونه برابر با ۹ بالاترین راندمان بازیافت بدست آمد. شاه طاهری و همکاران در چندین مطالعه در زمینه استخراج فاز جامد فلزات سنگین توسط جاذب های مختلف به نتایج مشابهی دست یافتند [۸-۱۱]. Soyлак و همکاران نیز در مطالعه ای برای استخراج فاز جامد فلزات مس، سرب و نیکل، رنج ۸-۹ را به عنوان pH بهینه معرفی نمودند [۱۴]. به نظر می رسد که در این pH، آنالیت به مقدار بیشتری در حالت یونیزه قرار داشته و می تواند به آسانی با گروه های عاملی لیگاند در سطح جاذب پیوند برقرار نماید. در این مطالعه از یک جاذب غیر قطبی استفاده شد که تمایلی بین آن و آنالیت یونیزه وجود نداشت، بنابراین جهت برقراری پیوند بین آنالیت و جاذب از یک واسطه (لیگاند) استفاده گردید که گروه های عاملی موجود در آن زمینه ی برقراری پیوند بین یون های کادمیوم و جاذب و انجام یک استخراج کارآمد را برقرار نمود. آمونیوم پیرولیدین دی تیوکاربامات (APDC) به عنوان لیگاند مناسب در این مورد انتخاب گردید، زیرا به دلیل وجود گروه عاملی سولفور در آن یک لیگاند نرم به شمار می آید و کادمیوم نیز در گروه کاتیون های نرم قرار می گیرد. در بین غلظت های مختلف لیگاند اضافه شده به نمونه ها، غلظت بین ۰/۰۵ تا ۰/۰۷ درصد راندمان جذب بالایی را فراهم نمود. به دلیل پیشگیری از اشباع سطح جاذب با لیگاند و همچنین کاهش مصرف مواد در فرایند استخراج، غلظت ۰/۰۵ درصد به عنوان

بالایی از حلالهای سمی و گاهی اشتعال پذیر و راندمان استخراج پایین روش، امروزه استخراج فاز جامد به عنوان روشی مناسب جهت تغلیظ و تخلیص فلزات سنگین از انواع نمونه ها بویژه نمونه های بیولوژیکی مورد توجه قرار گرفته است. در صورتی که متغیرهای تأثیرگذار بر جذب و بازیافت آنالیت به درستی تنظیم شده و همچنین جذب متناسب با آنالیت و کل نمونه انتخاب گردد راندمان استخراج بالایی مقدور خواهد شد. در اکثر مطالعات موجود [۱۴، ۲۰، ۲۱]، معمولاً ۵ تا ۶ متغیر بهینه سازی شده است در حالیکه مطالعه ی کنونی به ۹ متغیر پرداخته و آنها را بهینه سازی نموده است. همچنین آزمایشات مربوط به تکرارپذیری در این روش با نمونه های بیولوژیک انجام شده است و بنابراین روش با قابلیت اعتماد بالا می تواند جهت تعیین مقدار کادمیوم در چنین نمونه هایی مورد استفاده قرار گیرد. فاکتور تغلیظ بالا نیز امکان استفاده از دستگاه های آنالیز با حساسیت کمتر را مقدور نموده و بنابراین روش در اکثر آزمایشگاه های معمول قابل کاربرد خواهد بود.

به منظور تصدیق کارایی، روش بهینه شده جهت آماده سازی، تغلیظ و تخلیص نمونه های واقعی جمع آوری شده از صنعت استفاده گردید (جدول ۴). با توجه به غلظت بسیار پایین آنالیت ها در نمونه های مو و ناخن که زیر حد تشخیص دستگاه های آنالیز معمول می باشد و همچنین وجود ترکیبات مداخله کننده ی فراوان در چنین نمونه هایی، استخراج فاز جامد روش کارآمدی در این گونه موارد محسوب می گردد. در سطوح بسیار کم مقدار از کادمیوم، فاکتور تغلیظ ۳۳/۳۳ منجر شد که غلظت در نمونه های مو و ناخن به قابلیت تشخیص دستگاه آنالیز رسیده و تعیین مقدار به راحتی صورت پذیرد. در مطالعه ای در سال ۲۰۱۰ [۹]، روش استخراج فاز جامد جهت تعیین مقدار کبالت در نمونه های مو و ناخن استفاده گردید. تفاوت مطالعه حاضر استفاده از جذب XAD-4 می باشد که قیمت بسیار پایین تری نسبت به کرموزورب ۱۰۲ دارد در حالیکه راندمان استخراج برابر با کرموزورب ۱۰۲ را مقدور می نماید. در مطالعه کارگر و همکاران (۲۰۱۳) از روش استخراج فاز

یافت. در حجم ۵۰۰ میلی لیتر (غلظت ۰/۰۴ میکرو گرم بر میلی لیتر) بالاترین راندمان بدست آمده و این حجم به عنوان سطح بهینه انتخاب شد. بدین ترتیب فاکتور تغلیظ ۳۳/۳۳ از تقسیم حجم نمونه به حجم حلال محاسبه گردید. به دلیل سطوح بسیار پایین آنالیت ها در نمونه های بیولوژیک که ممکن است زیر حد تشخیص بسیاری از دستگاه های آنالیز باشند، این فاکتور تغلیظ می تواند غلظت آنالیت ها را به مقدار قابل تشخیص برای این تجهیزات برساند. با توجه به حجم نمونه بالا، بدیهی است که هرچه دبی عبور نمونه از روی جذب بالاتر باشد بر سرعت فرایند افزوده خواهد شد. در بین سطوح مورد آزمایش اگر چه دبی ۹ میلی لیتر در دقیقه نیز راندمان قابل قبولی را فراهم نمود اما جهت اطمینان از کارایی استخراج در حجم های نمونه ی پایین، دبی ۵ میلی لیتر در دقیقه به عنوان سطح بهینه انتخاب گردید. نتایج جدول ۲ نشان می دهند که در بین دو وزن جذب مورد آزمایش، وزن ۱۰۰ میلی گرم راندمان جذب مناسبی را مقدور نکرده و مقدار ۵۰۰ میلی گرم به عنوان بهینه انتخاب شد. وزن مناسب جذب فرصت طولانی تری را برای انجام واکنش ها را مهیا نموده و یون های کادمیوم با راندمان مناسب در سطح جذب پیوند بر قرار می کنند. از دیگر متغیرهای تأثیرگذار بر راندمان استخراج می توان اثر ماتریکس را نام برد و طبق نتایج با افزودن مقادیر تقریباً بالایی از برخی یون ها که امکان حضور آنها در نمونه های واقعی نیز وجود دارد، مداخله ای در فرایند جذب و بازیافت بوجود نیامده و راندمان های بالای ۹۲ درصد در حضور این یون ها بدست آمد. به منظور ارزیابی تکرارپذیری روش بهینه شده، آزمایشات در طول روز، شش آزمایش در طول هر روز و به مدت سه روز متوالی انجام شد. نتایج مربوط به کل آزمایشات قابلیت اطمینان و تکرارپذیری روش استخراج را تصدیق نمودند. ضرایب تغییر (CV%) بدست آمده نیز نشان دهنده ی صحت و دقت مناسب روش می باشد.

به دلیل برخی از مشکلات در روش هایی مانند استخراج مایع مایع (LLE) مانند نیاز به حجم های

تعیین مواجهات شغلی با ترکیبات شیمیایی مختلف و در انواع نمونه های محیطی و بیولوژیکی فراهم نموده است.

منابع

1. Johri Jacquillet G, Unwin R. Heavy metal poisoning: the effects of cadmium on the kidney. *Biomaterials*; 2010, 23: 783-792.
2. World Health Organization. Preventing Disease through Healthy Environments, Exposure to Cadmium: A Major Public Health Concern. Public Health and Environment, Editor. 2010, WHO Document Production Services: Geneva.
3. Shahtaheri S.J, Khadem M, Golbabaei F, Rahimi Froushani A. Preconcentration of Cadmium Using Amberlite Xad-4 Prior To Atomic Absorption Spectrometry. *Iran. J. Environ Health. Sci. Eng*; 2006, 3(1): 45-52.
4. Waalkes M.P, Aver M, Diwa B.A. Carciogeic Effects of Cadmium in the Nobel (NBL/Cr) rat: Iduction of Pituitary, Testicular, and Injection Sitr Tumors and Interaepithelial Proliferative Lesions of the Dorsolateral Prostate. *Toxicological Sciences*; 1999, 59: 154-161.
5. Winder C, Stacey N. Occupational Toxicology. 2nd ed. Washington, D.C.: CRC Press. 2004.
6. Godt J, Scheidig F, Grosse-Siestrup C, et al. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*; 2006, 1(22): 1-6.
7. Shahtaheri S.J, Ghamari F, Golbabaei F, Rahimi Froushani A, Abdollahi M. Sample Preparation Followed by High Performance Liquid Chromatographic (HPLC) Analysis for Monitoring Muconic Acid as a Biomarker of Occupational Exposure to Benzene. *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics (JOSE)*; 2005, 11(4): 377-388.
8. Shahtaheri S.J, Khadem M, Golbabaei F, Rahimi-Froushan A, Ganjali M.R, Norouzi P. Solid phase extraction for evaluation of occupational exposure to Pb (II) using XAD-4 sorbent prior to atomic absorption spectroscopy. 2007, nternational *Journal of Occupational Safety and Ergonomics (JOSE)*; 13 (2): 137-145.
9. Khadem M, Golbabaei F, Rahimi Froushani A, Shahtaheri S.J. Optimization of Solid Phase Extraction for Trace Determination of Cobalt (II)

جامد جهت پیش تغلیظ نمونه های ادرار کارگران یک صنعت سرامیک سازی و برای تعیین مواجهه ی آنها با کبالت استفاده شد. با استفاده از این روش نیازی به کاربرد روش های قدیمی نمونه ادرار مانند هضم اسیدی نبوده و تغلیظ نمونه ها به تشخیص آنها توسط روش های آنالیز مربوطه کمک نمود [۲۲]. مطالعات بسیار کمی در مورد اندازه گیری فلزات در نمونه های مو و ناخن وجود دارد که اغلب آنها بدون استفاده از روش های آماده سازی مانند استخراج فاز جامد انجام شده است [۲۳، ۱۷]. در این مطالعات جهت تعیین غلظت های پایین معمولاً دستگاه های آنالیز پیشرفته بکار گرفته شده اند. Mehra و همکاران (۲۰۰۴) میزان کادمیوم و سرب را در نمونه های مو و ناخن اندازه گیری نمودند [۲۴]. آنها جهت آنالیز نمونه ها از دستگاه جذب اتمی با کوره گرافیتی استفاده نمودند. طبق نتایج این مطالعه، غلظت فلزات در مو و ناخن افراد مواجهه یافته تفاوت معنی داری با افراد مواجهه نیافته داشت. شایان ذکر است که سازمان بهداشت جهانی (WHO) حداکثر مقدار قابل قبول کادمیوم در نمونه های مو و ناخن را ۱۰ میکروگرم بر گرم اعلام نموده است [۲۳]. نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که کارگران با مقادیر بالاتر از حد مجاز کادمیوم در معرض می باشند.

این مطالعه نشان داد که استخراج فاز جامد روش مناسبی جهت خالص سازی و تغلیظ انواع نمونه ها می باشد و به دلیل مزایای زیاد نسبت به روش هایی چون استخراج مایع مایع می تواند جایگزین مناسبی برای آنها باشد. رنج وسیعی از انواع جاذب ها برای کاربرد در این روش در دسترس هستند، همچنین سادگی و قابلیت اطمینان و تکرار پذیری بالا از ویژگی های آن به شمار می آید. قابلیت کاربرد در آزمایشگاه های معمول، عدم استفاده از حلال های آلی در مقادیر زیاد و حذف عوامل مداخله کننده موجود در نمونه ها از دیگر مزایای آن می باشد. فاکتور تغلیظ بالا نیز امکان استفاده از دستگاه های آنالیز با حساسیت کمتر را مقدور می نماید. ویژگی های مذکور منجر به مورد توجه قرار گرفتن استخراج فاز جامد در سالهای اخیر شده است و امکان استفاده از آن را در

Nickel and Lead in Surface Seawater Samples on a Column Filled With Amberlite Xad-2000. *Analytical Letters*; 2001, 34 (11): 1935-1947.

21. Hennion M.C. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*; 1999, 856: 3-54.

22. Kargar F, Shahtaheri S.J, Golbabaei F, Barkhordari A, Rahimi-Froushani A, Khadem M. Evaluation of Occupational Exposure of Glazers of a Ceramic In-dustry to Cobalt Blue Dye. *Iranian J Publ Health*; 2013, 42(8): 868-875.

23. Shan U.A, Ikram N. Heavy metals in human scalp hair and nail samples from Pakistan: influence of working and smoking habits. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences (IJCBS)*; 2012, 1: 54-58.

24. Mehra R, Junija M. Biological Monitoring of Lead and Cadmium in Human Hair and Nail and their Correlations with Biopsy Materials, Age and Exposure. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*; 2004, 41: 53-56.

Using Chromosorb 102 in Biological Monitoring. *International Journal of Occupational Hygiene (IJOH)*; 2010, 2 (1): 10-16.

10. Shahtaheri S.J, Khadem M, Golbabaei F, Rahimi-Froushan A, Ganjali M.R, Norozi P. Optimization of Sample Preparation Procedure for Evaluation of Occupational and Environmental Exposure to Nickel. *Iranian J Publ Health*; 2007, 36 (2):73-81.

11. Shahtaheri S.J, Khadem M, Golbabaei F, Rahimi Froushani A. Purification and Concentration of Lead Samples in Biological Monitoring of Occupational Exposures. *Iran Occupational Health Journal*; 2006; 3(1-2): 28-36.

12. Bouabdallah I, Zidane I, Hacht B, Touzani R, Ramdani A. Liquid-liquid extraction of copper (II), cadmium (II) and lead (II) using tripodal N-donor pyrazole ligands. *ARKIVOC*; 2006, 6: 59-65.

13. Takeshita Y, Sato Y, Nishi S. Supercritical fluid extraction of toxic metals from woods containing preservatives in Environmentally Conscious Design and Inverse Manufacturing. 1999: Tokyo. 906 - 910.

14. Soylak M, Karatepe A.U. Column Preconcentration/Separation and Atomic Absorption Spectrometric Determinations of Some Heavy Metals in Table Salt Samples Using Amberlite XAD-1180. *Turk J Chem*; 2003, 27: 235- 242.

15. Shahtaheri S.J, Khadem M, Golbabaei F, Rahimi-Froushan A. Solid Phase Extraction for Monitoring of Occupational Exposure to Cr (III). *Analytical Chemistry Insights*; 2007; 2: 125-132.

16. Zhang N, Tian S, Zhang S. Determination of trace cadmium in human hair, fingernail and toenail for ten years by flame atomic absorption spectrometry. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*; 2001, 21(3): 393-6.

17. Lemos V.A, de Carvalho A.L. Determination of cadmium and lead in human biological samples by spectrometric techniques: a review. *Environ Monit Assess*; 2010, 171: 255-265.

18. Were F.H, Njue W, Murungi J, Wanjau R. Use of human nails as bio-indicators of heavy metals environmental exposure among school age children in Kenya. *Science of the Total Environment*; 2008, 393: 376 - 384.

19. Manzoori J.L, Bavili-Tabrizi A. Cloud point preconcentration and flame atomic absorption spectrometric determination of Cd and Pb in human hair. *Analytica Chimica Acta*; 2002, 470: 215-221.

20. Narina I, Soylakb M, Elcic L, Dogand M. Separation and Enrichment of Chromium, Copper,

Solid phase extraction using xad-4 resin to evaluate the trace cadmium in hair and nail samples of metal industry workers

M. Khadem¹, S. J. Shahtaheri², F. Golbabaie³, A. Rahimi Froushani⁴

Received: 2014/05/07

Revised: 2014/08/23

Accepted: 2014/10/20

Abstract

Background and aims: Cadmium is a common industrial and environmental contaminant causing adverse health effects on respiratory system and kidney. This has been classified as a human carcinogen. Biological monitoring of cadmium and its measurement in urine, hair, and nail samples can be considered as an evaluation of the internal dose. Because of trace concentration of analytes in biological samples and matrix interferences, the preparation of such complicated samples is necessary prior to analysis. This study deals with the optimization of parameters affecting solid phase extraction (SPE) procedure for the trace analysis of cadmium in workers' hair and nail in city of Zanjan.

Methods: Solid phase extraction using XAD-4 resin was optimized with regard to effective factors. The optimized procedure was validated based on the "within-day" and "day-to-day" reproducibility experiments and suitable accuracy and precision were achieved. The optimized method was used for pre-treatment of hair and nail samples.

Results: Using the optimized method, the recoveries of the cadmium ion were more than 92%. A good reproducibility and repeatability was obtained for optimized method under the existing conditions. The concentrations of cadmium in hair and nail samples were 98.25 and 186.82 µg/g, respectively. Based on the results, the cadmium content of samples was more than the recommended maximum level (10g/g).

Conclusion: Solid phase extraction procedure using XAD-4 resin can be considered as a successful method to simplify the sample preparation for trace residue analysis. The findings indicated that, the developed method can be applicable for biological monitoring and for determination of analytes in different matrices like hair and nail to evaluate the occupational exposures.

Keywords: Solid phase extraction; Biological Monitoring; Cadmium; Hair; Nail.

1. Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2. (Corresponding author) Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences Tehran, Iran. shahtaheri@sina.tums.ac.ir

3. 1Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4. Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.