

HEAVY METALS IN HUMAN HAIR SAMPLES FROM SILESIA PROVINCE: THE INFLUENCE OF SEX, AGE AND SMOKING HABIT

Krystyna SROGI

Institute of Inorganic Chemistry, Gliwice

ABSTRACT: Over 90 hair samples were collected from 67 healthy males and 26 healthy females in Silesia, Poland. The samples were analysed with DPASV for the simultaneous determination of several elements and with FAAS for all elements after wet digestion. The average values of element concentrations in the hair samples are presented. We observed that the hair of males showed consistently higher levels of lead, cadmium, zinc and copper than the hair of females of the same age group and from the same area. There were some significant changes in hair Cd, Cu, Zn and Pb concentrations, depending on the place of residence of the donors.

KEY WORDS: Hair; Heavy metal; Microwave mineralisation; Flame atomic absorption spectrometry; Differential pulse anodic stripping voltammetry.

Problems of Forensic Sciences, vol. LX, 2004, 7–27
Received 26 October 2004; accepted 9 December 2004

INTRODUCTION

During the past three decades, the determination of trace element levels in hair has been the subject of continual interest in the biomedical and environmental sciences [1, 10]. The significance of such measurements as indices for assessing nutritional status, diagnosing diseases, identifying systemic intoxication, and/or monitoring environmental exposures, however, remains controversial. On the one hand, hair can be considered to be an excretory product, the trace element contents of which reflect mineral metabolism in the body. On the other hand, their concentrations bear little relation to the levels in other tissues [19].

It should be noted that human hair is an attractive biological material because of the simplicity of sampling, transport and handling, as well as because it can provide information about concentrations of some trace elements that are considerably more concentrated in hair than in other biological materials, which makes analysis easier [47]. Trace elements accumulate in the body over given periods of time: therefore, they reflect the biomedical

and environmental history of the body as well as long term metabolic changes [11, 40].

The importance of these examinations is attested by the fact that there are several trace elements in the human body that are important in biochemical processes. Some researches have been carried out with the aim of correlating the levels of metals in human hair with the diagnosis of various diseases [43, 47]. An excess or absence of these essential trace elements causes serious problems in the physiology of the body [12, 13]. For example, a low level of essential bioelements such as Ca, Fe, Zn in human hair was found to be typical of deficiency diseases, metabolic disturbances and physiological disorders [19]. The trace elements incorporated into hair from within the body (endogenous) must be differentiated from contamination by external (exogenous) sources [19].

A wide range of environments has been investigated. For example, Samanta et al. [36] have used hair analysis to check levels of arsenic and hazardous elements (e.g. Zn, Cu, Cd, Pb) as a way of monitoring environmental (chemical) sources of pollution.

Various techniques have been employed in the detection of trace elements present in human hair. Among others, atomic fluorescence spectrometry [34], atomic absorption spectrometry [3, 7, 21, 25], inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) [2, 6, 11, 38, 43], spectrofluorimetric [17] and differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) [10, 29, 30] are widely used for trace element analysis. For example, the comparison between particle – induced X-ray emission (PIXE) and neutron activation analysis (NAA) in determination of trace elements (Cr, Co, Ni, Se, Hg, Pb, Cu and Zn) in human hair made by Hosseini et al. [15] and Zhunk et al. [47].

The literature contains frequent references to differences in the trace element concentrations of hair from various subgroups of the general population. These differences have been observed between subgroups formed on the basis of age, race, hair colour, diet and gender.

In conclusion, compared to urinalysis, hair testing is a more effective tool for revealing drug intake, because of its non-invasive sampling method, wider detection window and the possibility of re-sampling or re-identification, e.g. by DNA analysis. Furthermore, hair analysis could become a more useful tool that could be directly applied in analytical toxicology and criminology [22, 45], clinical diagnosis, e.g. in monitoring of psychiatric or neurological disease treatment and for epidemiological purposes, where the average long term behaviour of metabolites, hormones, drugs [4, 28, 39] or trace elements can be monitored without too frequent blood or urine analysis. For example, Lech et al. [23] have reported that concentrations of calcium, magnesium, zinc, copper and lead in the hair of children decreased with various neurological and rheumatic diseases.

Nowadays, this methodology is successfully applied to determination of trace elements and organic compounds (drugs, etc.) in human hair samples. An obvious advantage of hair analysis is the possibility of monitoring environmental exposure to heavy metals [19]. Thus, the aim of the present study was to measure the heavy metals: Zn, Cd and Pb in the hair of people living in Silesia Province. In the present work, element concentrations in the hair of healthy people of both sexes were determined with differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) and flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The high selectivity and sensitivity coupled with simplicity and low cost make FAAS and DPASV the most widely used techniques for the determination of trace elements in hair.

MATERIALS AND METHODS

Currently, sample preparation is of predominant importance, given the developments that have taken place in analytical techniques.

The initial step in hair analysis is collection of hair samples. Hair samples were collected from 93 healthy persons in Silesia, Poland. The hair samples were collected as close as possible to the scalp from the symmetrical occipital region using stainless steel scissors. Only the first 2 cm of the proximal hair sample were used for analysis.

Hair samples were collected from 67 males and 26 females in an industrial zone (study group) and a rural zone (control group) in Silesia. A questionnaire given to all participants provided the following information: sex, age, home address, smoking, nutritional habits and occupational exposure to heavy metals. None of the subjects reported occupational exposure to any of the heavy metals studied in this paper.

Sampling was done by the procedure recommended by the IAEA [35]. The samples were cleaned before analysis, as recommended by an IAEA advisory group [35] as well as in other researches [8, 26, 27, 37, 41]. Samples of about 100 mg of hair were placed in beakers and stirred for 10 min periods successively with acetone, three portions of water and again with acetone; in each wash, 100 ml of solvent was used and decanted. The hair samples were then wrapped in a sheet of paper and air-dried at room temperature in a clean dust-free room for one day. About 100 mg of the cleaned and dried (in an oven at 90°C) hair was digested in digestion vessels with a microwave digestion system (Milestone 1200 ML MEGA, Italy) at 600 W and 30 min. The digestion conditions were applied in five step processes. Each step lasted for 5 min. After cooling for 30 min the vessels were opened carefully. The selected digestion solution consisted of concentrated nitric acid (Suprapure, 65%) and hydrogen peroxide (Suprapure, 30%) (4:1 v/v). The acid mixture

(6 ml maximum) was used for the sample digestion process. Under these conditions, digestion was complete. Accuracy was measured by (CRM) Certified Reference Material – CRM GBW 07601 Human Hair China, National Analysis Centre for Iron and Steel, Beijing, China. Accuracy was also confirmed by comparing the results with those obtained by the usual internal standard method.

After destruction of the organic matrix by microwave mineralization, the metal ions concentration was determined by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) using an AAS-30 Carl Zeiss Jena (Germany) spectrometer with pneumatic nebulisation hollow cathode lamp made by Photron and Narva. Parallel measurements of zinc, lead, cadmium and copper in these samples were made by differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV). The voltammetric procedure was carried out after adjustment of the pH to 4.7 with acetate buffer and displacement of oxygen with nitrogen.

Standard solutions were prepared from single-element stock solutions of 1000 $\mu\text{g/ml}$ from Merck (Darmstadt, Germany). All chemical materials used in this work were suprapure grade. Blank samples were prepared to detect potential contamination during the digestion procedure.

Data were analysed statistically using the following: the arithmetic mean (\bar{x}_i), standard deviation (and other statistical parameters), coefficient of Pearson correlation, adjusted linear regression and Student test. The \bar{x}_i values are tested for outliers using several tests (parametric) in order to minimise the risk of so-called masking effects, i.e. the phenomenon whereby the presence of several discordant results in a given population tends to prevent identification of the most discordant of them as an outlier, and to ensure sufficient power and selectivity for outlier identification. For this reason, three tests are used: Grubbs, Dixon and coefficient of kurtosis. The results of statistical calculations are compared with appropriate critical values for a selected significance level, α , and when the calculated value exceeds the critical value, the most discordant value and/or the pair (for the Dixon test) and/or possibly the group of the most distant values from the mean (for the kurtosis test) are considered as outliers from the statistical point of view. Shapiro-Wilk tests were used for testing normality of the \bar{x}_i values.

RESULTS AND DISCUSSION

The absorption or depletion of metals in human tissues (hair) may occur due to environmental and/or occupational exposure, poor diet, illness, and ingestion of drugs or specific treatments. Although the relationship between concentration of trace elements in scalp hair and environmental exposure to metals is

very complex, it is reported that trace elements changes in the hair may reflect general community exposure in dustfall, household and soil. In spite of problems caused by external contamination and lack of standardised methodology in hair analysis, the World Health Organisation (WHO) has recommended the use of hair testing for heavy metal monitoring in some cases [19].

Data on the concentrations of various metals in female and male scalp hair of the population of Silesia Province (industrial and control area) are given in Table I. Sex was the most important variable influencing the Cd, Cu, Zn and Pb content in hair. However, several authors did not find significant differences between sexes [44]. In the present work, in female hair samples, Zn showed a maximum concentration of 166 mg/kg, followed by Cu (16.1 mg/kg) and Pb (15.6 mg/kg), while Cd was found at the 0.69 mg/kg level (Table I). It should be noted that all persons were healthy and had no clinical signs of disease in general medical check-ups. Of all the metals analysed for males (Table I), the range of concentrations found for Zn was between 81.0 and 388 mg/kg, followed by Cu, between 10.2 and 91.4 mg/kg; however, the concentration of Pb (8.22–84.2 mg/kg) and Cd (0.18–4.99 mg/kg) also differed statistically significantly for studied materials. Tables II and III show the distribution for male and female donors, indicating maximum concentration of element for the 18–50 age group for males and females. Thus, the present study mainly reflected these age groups for metal distribution in the hair of both sexes. The metal concentration distribution in scalp hair is sex – specific and the male and female hair are quite different in terms of their trace element content, resulting from different metabolic pathways [2]. The hair concentrations of copper, lead, cadmium and zinc for those under 18 years of age are significantly different from those in persons of about 50 years of age. The younger group showed lower levels of these elements. For example, zinc in the hair of males increased from 80.1 mg/kg at age 18 to 170 mg/kg for those aged 30 years and from 299 mg/kg for men aged 40 years to 388 mg/kg for men aged 50 years. Similarly, hair Pb, Cd and Cu concentrations were found to increase with age. Mean hair Cd concentration, however, did not show significant differences for the age groups of 18–25, 26–35, 36–45 and 46–50 years. Similarly, it was observed that concentrations of Zn and Cu in female hair populations tended to increase with age, while those of Pb did not show significant differences with age. However, it was found that the Cd concentration increased greatly for the 40 to 50-year-old female group. On the other hand, Kałuza et al. [18] and Radomska et al. [33] reported that the copper content of the hair of Polish populations for age groups: 75–80 years [18] and 16–60 years [33], is much lower: 11.2 mg/kg and 13.9 mg/kg, respectively. However, Sreenivasa Rao et al. [38] observed that lead and cadmium content in hair samples of Indian residents does not change much in various subgroups of the population based on age

(9–60 years), whereas the Zn and Cu content in hair samples of Indian residents increases with age.

TABLE I. RESULTS OF HAIR ANALYSES (MALES, 67; FEMALES, 26)

| Parameter | Concentration [mg/kg wet weight] | | | | | | | |
|--------------------|----------------------------------|------|-----------------|------|-----------------|------|------------------|------|
| | Zn | | Pb | | Cd | | Cu | |
| | M | F | M | F | M | F | M | F |
| Arithmetic mean | 258 | 165 | 37.8 | 15.6 | 2.33 | 0.69 | 47.7 | 16.1 |
| –95% <i>CI</i> * | 240 | 150 | 32.9 | 13.9 | 2.03 | 0.45 | 41.4 | 14.1 |
| 95% <i>CI</i> * | 276 | 181 | 42.7 | 17.2 | 2.64 | 0.93 | 53.9 | 18.1 |
| Standard deviation | 72.7 | 38.3 | 20.2 | 4.03 | 1.26 | 0.58 | 25.5 | 4.89 |
| Minimum | 80.9 | 69.1 | 8.22 | 5.44 | 0.18 | 0.10 | 10.2 | 7.45 |
| Maximum | 388 | 220 | 84.2 | 21.3 | 4.99 | 1.78 | 91.4 | 26.3 |
| Variance | 5296 | 1465 | 409 | 16.3 | 1.60 | 0.34 | 652 | 23.9 |
| <i>p</i> | <i>p</i> < 0.001 | | <i>p</i> < 0.05 | | <i>p</i> > 0.05 | | <i>p</i> < 0.001 | |

* – 95% confidence interval of data.

TABLE II. ZN, PB, CD AND CU CONCENTRATIONS IN HAIR OF MALES IN RELATION TO AGE

| Element | Age group (years) | | | |
|---------|---|-----------------------|------------------------|------------------------|
| | 18–25 <i>n</i> = 11 | 26–35 <i>n</i> = 9 | 36–45 <i>n</i> = 23 | 46–50 <i>n</i> = 24 |
| | Concentration (arithmetic mean ± SD) [mg/kg wet weight] | | | |
| Zinc | 160 ± 13.3 | 231 ± 23.7 | 290 ± 27.9 | 352 ± 36.7 |
| Lead | 16.6 ± 3.65 | 23.5 ± 7.21 | 49.7 ± 13.9 | 64.5 ± 16.5 |
| Cadmium | 0.71 ± 0.65 | 1.56 ± 0.99 | 2.73 ± 0.54 | 4.71 ± 1.34 |
| Copper | 14.7 ± 4.72 | 32.5 ± 5.92 | 62.1 ± 12.5 | 82.4 ± 12.9 |

TABLE III. ZN, PB, CD AND CU CONCENTRATIONS IN HAIR OF FEMALES IN RELATION TO AGE

| Element | Age group (years) | | | |
|---------|---|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| | 18–25 <i>n</i> = 4 | 26–35 <i>n</i> = 6 | 36–45 <i>n</i> = 11 | 46–50 <i>n</i> = 5 |
| | Concentration (arithmetic mean ± SD) [mg/kg wet weight] | | | |
| Zinc | 110 ± 9.98 | 161 ± 18.9 | 180 ± 19.7 | 196 ± 17.5 |
| Lead | 9.25 ± 2.61 | 13.9 ± 4.52 | 17.9 ± 3.42 | 21.3 ± 5.24 |
| Cadmium | 0.25 ± 0.05 | 0.27 ± 0.04 | 0.37 ± 0.12 | 1.47 ± 0.56 |
| Copper | 8.23 ± 2.81 | 13.9 ± 3.32 | 16.7 ± 2.98 | 26.9 ± 2.06 |

Correlation coefficients between the metals are shown in Tables IV and V for males and females, respectively. The metal to metal correlation showed that for females a significant correlation coefficient ($r > 0.900$) was found be-

tween Cu and Zn, and a significant correlation coefficient ($r > 0.800$) was found between Pb and Zn, Cu and Pb, Cu and Cd. For males a similarly statistically significant correlation coefficient ($r > 0.900$) was found between Cd and Pb, Cu and Pb, Cu and Cd. However, regression data (Table VI) showed random variation in metal uptake as a function of concentration of a metal, while regression equations suggest a strong dependence of average metal concentration on average age of male and female groups, which was found to be significant for males and females for Zn, Pb and Cu.

TABLE IV. COEFFICIENT OF PEARSON CORRELATION (MALES)

| | Zinc | Lead | Cadmium | Copper |
|---------|----------|----------|----------|----------|
| Zinc | 1.000000 | – | – | – |
| Lead | 0.828620 | 1.000000 | – | – |
| Cadmium | 0.898901 | 0.949674 | 1.000000 | – |
| Copper | 0.821380 | 0.969998 | 0.957629 | 1.000000 |

TABLE V. COEFFICIENT OF PEARSON CORRELATION (FEMALES)

| | Zinc | Lead | Cadmium | Copper |
|---------|----------|----------|----------|----------|
| Zinc | 1.000000 | – | – | – |
| Lead | 0.892463 | 1.000000 | – | – |
| Cadmium | 0.753354 | 0.559650 | 1.000000 | – |
| Copper | 0.916674 | 0.879723 | 0.816047 | 1.000000 |

TABLE VI. REGRESSION EQUATIONS AS RELATED TO MALE (M) AND FEMALE (F) AGE

| | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| [Zn] = $7.09 \times M + 0.11$ | [Zn] = $3.14 \times F + 0.14$ |
| [Pb] = $20.26 \times M + 0.45$ | [Pb] = $8.92 \times F + 1.11$ |
| [Cd] = $19.88 \times M + 7.57$ | [Cd] = $19.58 \times F + 9.80$ |
| [Cu] = $19.62 \times M + 0.37$ | [Cu] = $8.41 \times F + 1.11$ |

Hair colour is another variable that may be responsible for variations in the trace element concentrations of hair from different subgroups of the populations (Table VII). We found that black hair collected from males had a significantly higher zinc concentration than did blond or brown hair from males. For females, we found that the lead concentration in black hair was greater than that in blond and brown hair. Other differences we observed for both sexes were: blond hair contained less zinc than black and brown; and for males, black hair was lower in cadmium and higher in lead than were the other hair colours in males. No differences on the basis of colour were observed for copper (Table VII). Contrary to sex, no significant correlation be-

tween the hair colour of male and female donors and the levels of Cu in hair could be established.

TABLE VII. THE EFFECT OF VARIOUS FACTORS ON THE MEAN* CONCENTRATION OF LEAD, CADMIUM, ZINC AND COPPER IN THE HAIR OF PERSONS FROM SILESIA PROVINCE

| Factors | Sex | Concentration of element, arithmetic mean \pm <i>SD</i> [mg/kg] | | | |
|------------------------------|-----|---|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | Zn | Pb | Cd | Cu |
| Place of residence | | | | | |
| Study zone (industrial area) | M | 266 \pm 56.2 | 38.3 \pm 11.7 | 1.78 \pm 1.34 | 40.1 \pm 16.9 |
| | F | 159 \pm 49.5 | 17.4 \pm 11.9 | 0.87 \pm 0.55 | 14.6 \pm 8.41 |
| Control zone (rural area) | M | 149 \pm 36.1 | 29.3 \pm 12.7 | 1.21 \pm 0.98 | 30.2 \pm 19.8 |
| | F | 91.4 \pm 38.7 | 10.0 \pm 7.82 | 0.57 \pm 0.52 | 10.7 \pm 7.44 |
| Hair color | | | | | |
| Blond | M | 151 \pm 19.2 | 14.4 \pm 6.77 | 1.67 \pm 1.11 | 30.1 \pm 13.7 |
| | F | 91.2 \pm 29.8 | 7.36 \pm 4.88 | 0.55 \pm 0.33 | 14.4 \pm 5.89 |
| Brown | M | 180 \pm 56.1 | 15.3 \pm 10.1 | 1.75 \pm 1.12 | 31.4 \pm 7.56 |
| | F | 100 \pm 34.7 | 8.01 \pm 3.67 | 0.60 \pm 0.45 | 13.9 \pm 7.22 |
| Black | M | 220 \pm 25.9 | 35.1 \pm 11.0 | 1.19 \pm 1.01 | 34.1 \pm 9.65 |
| | F | 145 \pm 45.3 | 15.3 \pm 7.98 | 0.65 \pm 0.51 | 13.5 \pm 8.93 |
| Smoking habits | | | | | |
| > One packet per day | M | 188 \pm 66.8 | 39.3 \pm 13.4 | 2.21 \pm 1.45 | 39.1 \pm 12.9 |
| | F | 122 \pm 25.7 | 14.7 \pm 7.49 | 1.89 \pm 1.34 | 15.4 \pm 10.4 |
| Non-smokers | M | 171 \pm 51.7 | 16.6 \pm 8.34 | 1.01 \pm 0.98 | 37.2 \pm 11.3 |
| | F | 134 \pm 38.4 | 8.88 \pm 3.65 | 0.69 \pm 0.48 | 13.3 \pm 9.44 |

* – arithmetic mean; *SD* – standard deviation based on 6 individual determinations.

It should be emphasised that all of the metals determined showed higher concentrations in smokers than in non-smokers (Table VII). The greatest differences were observed for Pb and Cd, where the mean content in smokers exceeded that in non-smokers by a factor of approximately 2.5 for Pb and 2 for Cd. Statistical testing (Students t-test) of the differences between the means was performed on the data expressed as logarithms, yielding highly significant differences between smokers and non-smokers for Zn and Cu ($p < 0.05$).

Another aspect of hair analysis that has raised questions about its application as a diagnostic tool is reports of decreasing concentration gradients for some elements in progressing from the proximal to the distal end of the hair shaft [19]. In this study, however, the average copper and lead concentrations in the proximal 2 cm of the hair shaft were approximately half those of the distal portion: Cu – 25.1 \pm 14.5 mg/kg and 51.2 \pm 20.3, respectively; Pb – 16.2 \pm 10.1 mg/kg and 32.3 \pm 24.6, respectively. From these studies, it transpires that higher copper and lead concentrations occur in that part of the shaft which has been exposed to the external environment for the longest

duration, which suggests that exogenous copper and lead contribute to the total amount determined.

The experiments were also designed to determine the Zn, Cd, Cu and Pb contents of hair donors from two areas of Silesia Province. Table VII summarises the results, which are presented by sex. In accordance with the main activities of the communities studied, it could be expected that higher hair Cd, Cu, Zn and Pb levels would be found in persons living in the study zone (industrial area). Although in the current study the concentrations of all elements were higher in the industrial area than in the control zone (rural area), the differences for Cd and Cu are not statistically significant. As shown in Table VII, element concentrations differ between the sexes; concentrations of Zn, Cd, Cu and Pb in both areas were higher in hair from males than from females. However, only the differences for Zn (in both areas) and for Pb reached statistical significance ($p < 0.05$). This may be due to the fact that agricultural land is watered by water from municipal sewage works, hence levels of trace elements in water, soil, plant and animals are higher than expected.

It should be noted that the presented data is consistent with available data reported in the literature (Table VIII), reflecting average levels of metals for male and female hair; however, a comparison was only made with metal concentrations in male hair from this study. Our Cd, Pb and Cu concentrations did not correspond to the range of reported concentrations in the literature, while Zn concentration found is within the reported ranges [5] for hair samples collected from ethnic and territorial groups inhabiting the former USSR, especially from Rossosh (Voronezh region) and for hair samples collected from the Xiamen area of south China [43]. However, compared with other ethnic groups, e.g. with Tadzhiks from Vorouch (Isfara district, Leninabad region), the concentration of zinc in hair found in the present study is much higher than the results reported by Batzevich [5]. In the case of Cd, Cu and Pb, in the present study, an elevated level of 2.33 mg/kg for Cd; 47.6 mg/kg for Cu and 37.8 mg/kg for Pb, respectively, were found, which are higher than the reported ranges of concentrations for metals: Cd (0.03–0.83 mg/kg) [24], Cu (20.0 mg/kg) [31] and Pb (0.86–8.93 mg/kg) [24], respectively. It is worth mentioning that in historical hair specimens of Japanese women, elements such as zinc, copper and lead occurred in much greater quantities than in the present study. The authors [41] who reported these data simply interpreted the elevated level as reflecting a greater absorption of elements in historical populations and postulated that this was the result of contamination from exogenous sources due to application of hair oil and cosmetics. As seen from Table VIII, the copper content obtained for the Silesian population group in the present investigation is less than values quoted

by Radomska et al. [32] for Canada (63.1 mg/kg) and USA (108 mg/kg) population groups and for Polish populations noted by Galas and Trzcionka [14].

TABLE VIII. COMPARISON OF PRESENT DATA WITH CORRESPONDING METAL CONTENT IN HAIR SAMPLES FROM DIFFERENT COUNTRIES

| Metal | Present study average value [mg/kg] | Reported average value (range) [mg/kg] | Country | Ref. |
|-------|-------------------------------------|--|-------------------|------|
| Zn | 258 | 295 [*] | Russia (Rossosh) | [5] |
| | | 142 [†] | Russia (Tadzhoks) | [5] |
| | | 162 [†] | Russia (Eskimos) | [5] |
| | | 307 ^{**} | Korea | [9] |
| | | (75.6–277) | Bangladesh | [16] |
| | | 170 | Poland | [32] |
| | | 176 | Poland | [18] |
| | | 180 ^{***} | Poland | [23] |
| | | 197 | Poland | [14] |
| | | 248 | Canada | [32] |
| 386 | Japan | [41] | | |
| Pb | 37.8 | (0.86–8.93) | Greece | [24] |
| | | 4.94 | Poland | [45] |
| | | 0.78 ^{****} | Poland | [20] |
| | | (0.30–1.60) ^{****} | Poland | [14] |
| | | 7.54 | Poland | [23] |
| | | 3.8 ^{***} | Japan | [41] |
| Cd | 2.33 | (0.03–0.83) | Greece | [24] |
| | | 0.97 | USA | [42] |
| | | 0.19 ^{****} | Poland | [20] |
| | | (0.07–1.40) ^{****} | Poland | [14] |
| | | 0.83 | | |
| Cu | 47.6 | 20.0 | India | [31] |
| | | 10.0 ^{***} | Poland | [23] |
| | | 13.9 | Poland | [32] |
| | | 11.2 | Poland | [18] |
| | | 10.2 | Poland | [14] |
| | | 57.3 [†] | Japan | [41] |
| | | 31.5 ^{**} | Korea | [9] |

* – female; ** – male; *** – young people (over 15 years old); **** – young people (over 18 years old).

Similarly, the zinc content determined for the Silesian population group by the present method matches well with values reported for Canada residents [32] and is higher than values reported for the Polish population by Kałuza et al. [18], Lech et al. [23] and Radomska et al. [33], but lower than figures reported by Cho et al. [9] in Korea (polluted areas – 307 mg/kg; unpolluted areas – 314 mg/kg, respectively) and higher than values observed by

Galas and Trzcionka [14] (Table VIII). However, Zaborowska et al. [45], for example, reported 201 mg/kg of Zn in the hair of school children from rural areas (the village of Urszulin) near Lublin.

Results obtained for the determination of trace elements in human hair by flame AAS have been compared to those obtained by DPASV. The results of zinc, lead, cadmium and copper determinations in human hair by AAS show excellent agreement with parallel measurements made by DPASV (Table IX). From a linear regression analysis of the results, the correlation for Zn is 0.9997, 0.9998 for Pb, 0.9995 for Cd and 0.9998 for Cu. The difference between the results obtained is not statistically significant (Table IX).

TABLE IX. TRACE ELEMENT IN HUMAN HAIR, COMPARISON OF FAAS AND DPASV

| Sample | Concentration (arithmetic mean) [mg/kg wet weight] | | | | | | | |
|--------|--|-------|------|-------|------|-------|------|-------|
| | Zn | | Pb | | Cd | | Cu | |
| | FAAS | DPASV | FAAS | DPASV | FAAS | DPASV | FAAS | DPASV |
| 1 | 80.1 | 80.9 | 10.1 | 10.8 | 0.55 | 0.59 | 12.1 | 12.9 |
| 2 | 90.2 | 90.9 | 12.2 | 12.8 | 0.66 | 0.69 | 13.1 | 13.5 |
| 3 | 100 | 101 | 16.1 | 16.9 | 0.75 | 0.79 | 14.5 | 14.9 |
| 4 | 170 | 171 | 17.1 | 17.8 | 0.59 | 0.60 | 14.9 | 14.7 |
| 5 | 191 | 192 | 20.4 | 20.9 | 0.94 | 0.97 | 20.7 | 21.2 |
| 6 | 200 | 201 | 26.7 | 26.9 | 1.12 | 1.19 | 26.1 | 26.9 |
| 7 | 225 | 226 | 30.1 | 30.7 | 1.44 | 1.49 | 30.1 | 30.9 |
| 8 | 280 | 281 | 35.7 | 36.1 | 1.89 | 1.92 | 40.1 | 40.9 |

The limits of detection (DL mg/kg), expressed according to IUPAC (IUPAC, 1978) and corresponding to the 95% probability level, are: FAAS – 0.60 (Cu), 0.12 (Pb), 0.011 (Cd), 0.69 (Zn); DPASV – 0.15 (Cu), 0.08 (Pb), 0.009 (Cd), 0.23 (Zn).

The observed spread in metal concentrations could be considered to arise from various factors, including racial, geographical, social, cultural and ethnic backgrounds, in addition to a whole multitude of variables such as environmental exposure, health conditions, food habits of individuals, their living conditions and environmental impacts etc.

References:

1. Arnold W., Sachs H., Hair analysis for medicaments – the best proof for a drug career, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 1994, vol. 348, pp. 484–489.
2. Ashraf W., Jaffar M., Mohammad D., Age and sex dependence of selected trace metals in scalp hair of urban population of Pakistan, *The Science of the Total Environment* 1994, vol. 151, pp. 227–233.

3. Bagliano G., Benischek F., Huber I., A rapid and simple method for the determination of trace metals in hair samples by atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 1981, vol. 123, pp. 45–56.
4. Baliková M. A., Habrdová V., Hair analysis for opiates: evaluation of washing and incubation procedures, *Journal of Chromatography B* 2003, vol. 789, pp. 93–100.
5. Batzevich V. A., Hair trace element analysis in human ecology studies, *The Science of the Total Environment* 1995, vol. 164, pp. 89–98.
6. Bozsai G., Quality control and assurance in hair analysis, *Microchemical Journal* 1992, vol. 46, pp. 159–166.
7. Bruhn C. G., Neira J. Y., Valenzuela G. D. [et al.], Determination of cadmium in hair and blood by tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry with chemical modifiers, *Talanta* 1999, vol. 18, pp. 537–549.
8. Chłopicka J., Zagrodzki P., Zachwieja Z. [et al.], Use of pattern recognition methods in the interpretation of heavy metal content (lead and cadmium) in children's scalp hair, *Analyst* 1995, vol. 120, pp. 943–945.
9. Cho S. Y., Awh O. D., Chung Y. J. [et al.], Trace element in man by instrumental neutron activation analysis of hair, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 1997, vol. 217, pp. 107–109.
10. Ciszewski A., Wasiak W., Ciszewska W., Hair analysis. Part 2. Differential pulse anodic stripping voltammetric determination of thallium in human hair samples of persons in permanent contact with lead in their workplace, *Analytica Chimica Acta* 1997, vol. 343, pp. 225–229.
11. D'Ilio S., Violante N., Senefonte O. [et al.], Occupational exposure of goldsmith workers of the area of Rome to potentially toxic metals as monitored through hair analysis, *Microchemical Journal* 2000, vol. 67, pp. 343–349.
12. Dombóvári J., Papp L., Comparison of sample preparation methods for elemental analysis of human hair, *Microchemical Journal*, 1998, vol. 59, pp. 187–193.
13. Dombóvári J., Papp L., Uzonyi I. [et al.], Study of cross-sectional and longitudinal distribution of some major and minor elements in the hair samples of haemodialysed patients with micro-PIXE, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 1999, vol. 14, pp. 553–557.
14. Galas W., Trzcionka J., ICP-AES method in the determination of the metals in human hair, *Chemia Analityczna* 1997, vol. 42, pp. 697–701.
15. Hosseini A. A., Amirabadi A., Afarideh H. [et al.], Determination of toxic and non-toxic hair trace elements in tobacco smokers using PIXE and NAA techniques, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B* 1996, vol. 109/110, pp. 239–242.
16. Husain M., Khaliguzzaman M., Abdullah M. [et al.], Trace element concentration in hair of the Bangladeshi population, *International Journal of Applied Radiation Isotope* 1980, vol. 31, pp. 527–533.
17. Jiang C., He F., Spectrofluorimetric determination of trace amounts of beryllium in mineral water and human's hair, *Spectrochimica Acta Part A* 2003, vol. 59, pp. 1321–1328.

18. Kałuża J., Jeruszka M., Brzozowska A., Iron, zinc and copper status of elderly people living in Warsaw district determined by hair analysis, *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* 2001, vol. 52, pp. 111–118.
19. Katz S. A., Chatt A., Hair analysis. Application in the biomedical and environmental science, VCH Publishers, New York 1988.
20. Kozielec T., Hornowska I., Kotkowiak L. [i in.], Study on lead and cadmium content in the hair of children and young people, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 1993, vol. 26, pp. 293–296.
21. Lech T., Studies on binding of some selected metallic elements in biological material – taking hair as a model, *Problems of Forensic Sciences* 1991, vol. 24/25, pp. 39–42.
22. Lech T., Wykorzystanie włosów ludzkich w kryminalistyce i toksykologii, *Prokuratura i Prawo* 1996, nr 7/8, s. 69–74.
23. Lech T., Garlicka A., Zych-Litwin C., Contents of calcium, magnesium, zinc, copper and lead in hair of children with various pathologic states, *Diagnostyka Laboratoryjna* 1996, t. 32, s. 477–484.
24. Leotsindis M., Kondakis X., Trace metals in scalp hair of Greek agricultural workers, *The Science of the Total Environment* 1990, vol. 95, pp. 149–156.
25. Markiewicz R., Hukałowicz K., Witkowska A. [i in.], Determination of chromium in women's hair by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization, *Chemia Analityczna* 2002, vol. 47, pp. 159–162.
26. Morton J., Carolan V. A., Gardiner P. H. E., Removal of exogenously bound elements from human hair by various washing procedures and determination by inductively coupled plasma mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 2002, vol. 455, pp. 23–34.
27. Muramatsu Y., Parr R. M., Concentrations of some trace elements in hair, liver and kidney from autopsy subjects – relationship between hair and internal organs, *The Science of the Total Environment* 1988, vol. 76, pp. 29–40.
28. Nakahara Y., Kikura R., Hair analysis for drugs of abuse XIX. Determination of ephedrine and its homologs in rat hair and human hair, *Journal of Chromatography B* 1997, vol. 700, pp. 83–91.
29. Peng J., Jin W., Anodic stripping voltammetric determination of trace lead in micro-samples with a mercury ultramicroelectrode, *Analytica Chimica Acta* 1992, vol. 264, pp. 213–219.
30. Pournaghi-Azar M. H., Dastango H., Differential pulse anodic stripping voltammetry of copper in dichloromethane: application to the analysis of human hair, *Analytica Chimica Acta* 2000, vol. 405, pp. 135–144.
31. Qureshi I. H., Chaudry M. S., Ahmed S., Trace element concentration in head hair of the inhabitants of the Rawalpindi-Islamabad area, *Journal of Radioanalytical and Chemistry* 1982, vol. 68, pp. 209–213.
32. Radomska K., Graczyk A., Konarski J., Analiza włosów jako metoda określenia poziomu biopierwiastków w organizmie ludzkim, *Biuletyn Warszawskiej Akademii Technicznej* 1995, t. 44, s. 143–153.

33. Radomska K., Graczyk A., Konarski J. [i in.], Ocena zawartości makro- i mikroelementów w organizmie ludzkim na podstawie analizy włosów, *Polski Tygodnik Lekarski*, 1991, t. 46, s. 24–26.
34. Rahman L., Corns W. T., Bryce D. W., Stockwell P. B., Determination of mercury, selenium, bismuth, arsenic and antimony in human hair by microwave digestion atomic fluorescence spectrometry, *Talanta* 2000, vol. 52, pp. 833–843.
35. Ryabukhin Y. S., Report IAEA/RL/41H, 8, 1977.
36. Samanta G., Sharma R., Roychowdhury T. [et al.], Arsenic and other elements in hair, nails, and skin-scales of arsenic victims in West Bengal, India, *The Science of the Total Environment* 2004, vol. 326, pp. 33–47.
37. Shrestha K. P., Oswald A., Trace elements in hair of epileptic and normal subjects, *The Science of the Total Environment* 1987, vol. 67, pp. 215–225.
38. Sreenivasa Rao K., Balaji T., Prasada Rao T. [et al.], Determination of iron, cobalt, nickel, manganese, zinc, copper, cadmium and lead in human hair by inductively coupled plasma – atomic emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B* 2002, vol. 57, pp. 1333–1338.
39. Stanaszek R., Piekoszewski W., Karakiewicz B. [et al.], Using hair analysis to monitor abstinence in patients on a methadone treatment programme, *Problems of Forensic Sciences* 2002, vol. 40, pp. 17–34.
40. Suhonen R. P. R., Dawber D. H., Fungal infection of the skin, hair and nails, Martin Dunitz, London 1999.
41. Suzuki T., Hongo T., Morita M. [et al.], Elemental contamination of Japanese women's hair from historical samples, *The Science of the Total Environment* 1984, vol. 39, pp. 81–91.
42. Takagi Y., Matsuda S., Imai S. [et al.], Trace elements in human hair: An international comparison, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1990, vol. 36, pp. 793–799.
43. Wang C. Y., Zhou Y. M., Yang W. Z., Multielement ICP-AES analysis of hair samples and a chemometrics study for cancer diagnosis, *Microchemical Journal*, 1995, vol. 51, pp. 5–14.
44. Wilhelm M., Lombeck I., Ohnesorge F. K., Cadmium, copper, lead and zinc concentrations in hair and toenail of young children and family members: a follow-up study, *The Science of the Total Environment* 1994, vol. 35, pp. 174–185.
45. Zaborowska W., Wierciński J., Maciejewska-Kozak H., The content of lead in the hair of those occupationally exposed in selected industrial plants, *Medycyna Pracy* 1989, vol. 40, pp. 38–43.
46. Zaborowska W., Wierciński J., Lead, cadmium, copper and zinc contents in hair of school children from selected rural areas near Lublin, *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny* 1997, vol. 48, pp. 337–342.
47. Zhunk L. I., Kist A. A., Human hair instrumental neutron activation analysis and medicine, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 1995, vol. 195, pp. 75–81.

METALE CIĘŻKIE W PRÓBKACH WŁOSÓW LUDZKICH Z REGIONU ŚLĄSKA: WPLYW PŁCI, WIEKU I UZALEŻNIENIA OD NIKOTYNY

Krystyna SROGI

WPROWADZENIE

Przez ostatnie trzy dekady oznaczanie zawartości pierwiastków śladowych we włosach było przedmiotem ciągłego zainteresowania nauk biomedycznych i środowiskowych [1, 10]. Istotność takich pomiarów jako wskaźników do szacowania stanu odżywienia, diagnozowania chorób, identyfikowania systematycznej intoksykacji i (lub) monitorowania działania czynników środowiskowych pozostaje jednakże przedmiotem różnych kontrowersji. Z jednej strony włosy można uznać za wytwór (produkt) skóry, który zawiera pierwiastki śladowe odzwierciedlające procesy metaboliczne minerałów w organizmie. Z drugiej strony ich koncentracja we włosach jest w niewielkim stopniu porównywalna z poziomem owych składników mineralnych w innych tkankach [19].

Należy zauważyć, że włosy ludzkie są atrakcyjnym materiałem biologicznym ze względu na prostotę pobierania próbek, transport i łatwość przygotowania do badań, jak również z tego względu, iż mogą dostarczyć informacji na temat zawartości niektórych pierwiastków śladowych, które mają istotnie większe stężenia we włosach niż w innym materiale biologicznym, co sprawia, że analizy są dużo łatwiejsze [47]. Pierwiastki śladowe gromadzą się we włosach w określonym czasie, dzięki czemu odzwierciedlają one biomedyczną i środowiskową historię organizmu, jak również zmiany metaboliczne zachodzące w długim czasie [11, 40].

Wagę takich badań potwierdza fakt, że w organizmie ludzkim jest kilka pierwiastków śladowych, które biorą udział w przebiegu procesów biochemicznych. Pewna liczba badań została przeprowadzona w celu skorelowania zawartości metali we włosach ludzkich z diagnozami różnych chorób [43, 47]. Nadmiar lub nieobecność niektórych pierwiastków śladowych wywołuje poważne problemy fizjologiczne [12, 13]. Przykładowo niski poziom podstawowych biopierwiastków, takich jak Ca, Fe, Zn we włosach ludzkich okazał się typowy dla chorób z niedoboru, zaburzeń metabolicznych i fizjologicznych [19]. Pierwiastki śladowe, które przedostają się do włosów z organizmu (endogenne), należy odróżnić od kontaminacji ze źródeł zewnętrznych (egzogenne) [19].

Przebadano wiele różnych rodzajów środowisk. Na przykład Samanta i in. [36] stosowali analizę włosów do monitorowania zawartości arseniku i innych pierwiastków toksycznych (np. Zn, Cu, Cd, Pb), by kontrolować środowiskowe (chemiczne) źródła zanieczyszczeń.

Do wykrywania pierwiastków śladowych we włosach ludzkich stosowano wiele różnych technik analitycznych. Między innymi szeroko stosowanymi metodami są: atomowa spektrometria fluorescencyjna [34], absorpcyjna spektrometria atomowa (AAS) [3, 7, 21, 25], emisyjna spektrometria atomowa z plazmą wzbudzaną induk-

cyjnie (ICP-AES) [2, 6, 11, 38, 43], spektrofлуорометрия [17] i anodowa woltamperometria inwersyjna w technice pulsowej różnicowej (DPASV) [10, 29, 30]. Przykładem może być porównanie między emisją promieniowania X wzbudzaną cząstkami (PIXE) i neutronową analizą aktywacyjną (NAA) w określaniu zawartości pierwiastków śladowych (Cr, Co, Ni, Se, Hg, Pb, Cu i Zn) we włosach ludzkich, przeprowadzone przez Hosseini i in. [15] oraz Zhunk i in. [47].

W literaturze przedmiotu można znaleźć częste odniesienia do różnic w stężeniach pierwiastków śladowych we włosach w różnych podgrupach populacji ogólnej. Te różnice obserwowano pomiędzy podgrupami wydzielonymi na podstawie wieku, rasy, koloru włosów, diety i płci.

Podsumowując, w porównaniu z analizą moczu, badanie włosów jest narzędziem bardziej efektywnym w wykrywaniu np. nadużywania narkotyków, ponieważ pozwala na nieinwazyjne próbkowanie, większy zakres detekcji i możliwość ponownego próbkowania lub ponownej identyfikacji, na przykład przy pomocy analizy DNA. Z drugiej strony analiza włosów może stać się bardziej użytecznym narzędziem do bezpośredniego zastosowania w toksykologii analitycznej i kryminologii [22, 45], diagnostyce klinicznej, np. przy monitorowaniu leczenia psychiatrycznego lub neurologicznego i dla celów epidemiologicznych, gdzie można kontrolować średnie długoterminowe zmiany metabolitów, hormonów, leków [4, 28, 39] lub pierwiastków śladowych bez konieczności częstego pobierania krwi lub moczu do analiz. Na przykład Lech i in. [23] donoszą, że stężenia wapnia, magnezu, cynku, miedzi i ołowiu we włosach dzieci zmniejszały się w przebiegu różnych chorób neurologicznych i reumatycznych.

Obecnie ta metodologia została z powodzeniem zastosowana do określania zawartości pierwiastków śladowych i związków organicznych (narkotyków i itp.) w próbkach włosów ludzkich. Oczywistą zaletą analizy włosów jest możliwość kontrolowania ekspozycji na metale ciężkie w otoczeniu [19]. Stąd celem obecnych badań było określenie zawartości metali ciężkich: Zn, Pb i Cd we włosach ludzi zamieszkujących Śląsk. W niniejszej pracy stężenia pierwiastków we włosach zdrowych kobiet i mężczyzn określano metodami anodowej woltamperometrii inwersyjnej w technice pulsowej różnicowej (DPASV) i absorpcyjnej spektrometrii atomowej w technice płomieniowej (FAAS). Duża selektywność i czułość tych metod, połączona z prostotą i niskimi kosztami powoduje, że absorpcyjna spektrometria atomowa w technice płomieniowej i anodowa woltamperometria inwersyjna są najczęściej stosowanymi technikami do wykrywania elementów śladowych we włosach.

MATERIAŁY I METODY

Próbki włosów zebrano w Polsce, na Śląsku, od 93 zdrowych osób. Włosy pobrano, przycinając możliwie jak najbliżej naskórka, symetrycznie z rejonu potylicznego, używając nożyczek ze stali nierdzewnej. Jedynie pierwsze 2 cm włosów pochodzące z odcinka najbliższego naskórka zostało użyte w badaniach.

Próbki włosów pobrano od 67 mężczyzn i 26 kobiet z obszaru zindustrializowanego (grupa badawcza) i wiejskiego (grupa kontrolna) województwa śląskiego. Wszyscy uczestnicy otrzymali kwestionariusz, w którym podali następujące dane: płeć, wiek, adres zamieszkania, zwyczajne żywienie, ekspozycję na oddziaływanie metali ciężkich z racji wykonywanego zawodu, ewentualne uzależnienie od papierosów.

Żadna z osób badanych nie poinformowała, że w związku z wykonywanym zawodem jest narażona na wpływ metali ciężkich poddanych niniejszym badaniom.

Próbki pobierane były zgodnie z procedurą polecaną przez Międzynarodową Komisję Energii Atomowej w Wiedniu (International Atomic Energy Agency – IAEA) [35]. Przed analizą próbki zostały oczyszczone zgodnie z zaleceniami grupy doradczej IAEA [35], podobnie jak w innych badaniach [8, 26, 27, 37, 41]. Odważone 100 mg próbki badanej włosów umieszczano w zlewkach i stopniowo mieszano w okresach 10-minutowych z acetonem, trzema porcjami wody i ponownie z acetonem, a w każdej kąpieli użyto do przepłukania 100 ml rozpuszczalnika. Następnie próbki zostały ułożone na papierze i przez jeden dzień suszone na powietrzu w temperaturze pokojowej w czystym, dokładnie odkurczonym pomieszczeniu. Około 100 mg oczyszczonych i wysuszonych (w suszarce w temperaturze 90°C) włosów było mineralizowanych w naczyniach teflonowych przy zastosowaniu promieniowania mikrofalowego (Milestone 1200 ML MEGA, Włochy) pod napięciem 600 W przez 30 min. Warunki mineralizacji prowadzono w pięciostopniowym procesie. Każdy etap trwał 5 minut. Po trzydziestominutowym chłodzeniu naczynia zostały ostrożnie otwarte. Wybrany mineralizat składał się ze skoncentrowanego kwasu azotowego (Suprapure, 65%) i ditlenku diwodoru (Suprapure, 30%) (4:1 v/v). W procesie mineralizacji próbek użyto maksymalnie 6 ml kwasu. W tych warunkach mineralizacja była pełna. Dokładność otrzymanych wyników weryfikowano w oparciu o zastosowanie certyfikowanego materiału odniesienia (Certified Reference Material) – CRM GBW 07601 Human Hair China, National Analysis Centre for Iron and Steel, Pekin, Chiny. Dokładność metody potwierdzono również poprzez porównanie wyników z wynikami uzyskanymi metodą dodatku wzorca wewnętrznego.

Po zniszczeniu matrycy organicznej poprzez mineralizację mikrofalową, stężenie jonów metali zostało określone przy pomocy absorpcyjnej spektrometrii atomowej w technice płomieniowej (FAAS). Zastosowano do tego spektrometr AAS-30 firmy Carl Zeiss Jena (Niemcy) z rozpylaniem (nebulizacją) pneumatyczną. Jako źródło promieniowania zastosowano lampę z katodą wnątkową firmy Photron & Narva. Równolegle przeprowadzono analizę zawartości cynku, ołowiu, kadmu i miedzi przy pomocy anodowej woltamperometrii inwersyjnej w technice pulsowej różnicowej. Procedura woltamperometrii została przeprowadzona po ustaleniu pH w próbkach badanych na poziomie 4,7 przy użyciu buforu octanowego i usunięciu tlenu z roztworów za pomocą gazowego azotu.

Roztwory wzorcowe przygotowywano ze standardowych roztworów o stężeniu 1000 µg/ml firmy Merck (Darmstadt, Niemcy). W badaniach stosowano odczynniki spektralnie czyste (sp. cz.). Próby ślepe przygotowano w celu wykrycia potencjalnych zanieczyszczeń podczas procesu mineralizacji.

Dane przeanalizowano statystycznie, stosując średnią arytmetyczną (\bar{x}), odchylenie standardowe (i inne parametry statystyczne), współczynnik korelacji Pearsona, dopasowaną regresję liniową i test Studenta. Wartości \bar{x}_i testowane dla wyników odstających z zastosowaniem kilku testów (parametrycznych) stosuje się w celu minimalizacji ryzyka tzw. efektów maskujących, czyli zjawiska, którego obecność w kilku niezgodnych wynikach w danej populacji ma tendencję do uniemożliwienia identyfikacji najbardziej niedopasowanego z nich jako profilu i zapewnienia wystarczającej siły oraz selektywności do identyfikacji wyników odstających. Z tego powodu użyto trzy testy: Grubbsa, Dixona i współczynnika kurtozy. Warto zaznaczyć, że wy-

niki obliczeń statystycznych porównywane są z odpowiednimi wartościami krytycznymi dla określonego poziomu istotności α , a w sytuacji, gdy obliczona wartość przekracza wartość krytyczną, najmniej dopasowana wartość i (lub) para (dla testu Dixon) i (lub) grupa wartości najbardziej odległych od średniej (dla testu kurtozy) brane są pod uwagę ze statystycznego punktu widzenia jako wyniki odstające. Do testowania normalności wartości \bar{x}_i użyto testów Shapiro-Wilka.

WYNIKI I ICH Dyskusja

Wehłanianie lub utrata metali w tkankach (włosach) może wynikać z narażenia na działanie niekorzystnych czynników w środowisku lub w pracy, ubogiej diety, choroby, zażywania narkotyków lub specyficznej terapii. Jakkolwiek relacje między stężeniem pierwiastków śladowych we włosach a środowiskowym wystawieniem na oddziaływanie metali ciężkich jest kwestią bardzo złożoną, badacze donoszą, że zmiany zawartości we włosach pierwiastków śladowych mogą odzwierciedlać ogólne narażenie społeczeństwa na czynniki zawarte w kurzu, a występujące w gospodarstwie domowym i w glebie. Pomimo problemów spowodowanych obecnością zanieczyszczeń zewnętrznych i braku wystandaryzowanej metodologii analizy włosów, Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) zaleciła w niektórych przypadkach stosowanie badań włosów do monitorowania obecności metali ciężkich [19].

Dane dotyczące stężeń różnych metali we włosach pobranych od kobiet i mężczyzn z rejonu Śląska (obszar zurbanizowany i kontrolny) przedstawiono w tabeli I. Płeć była najistotniejszą zmienną wpływającą na zawartość Cd, Cu, Zn i Pb we włosach, jednakże niektórzy autorzy nie znaleźli istotnych różnic między płciami [44]. W niniejszej pracy w próbkach włosów pobranych od kobiet maksymalne stężenia analitów były następujące: dla Zn 166 mg/kg, Cu 16,1 mg/kg i Pb 15,6 mg/kg, podczas gdy zawartość Cd była na poziomie 0,69 mg/kg (tabela I). Warto podkreślić, że wszystkie badane osoby były zdrowe i ogólne badania lekarskie nie wykazały żadnych klinicznych objawów chorobotwórczych. Ze wszystkich metali analizowanych u mężczyzn (tabela I) zakres stężeń dla Zn mieścił się między 81,0 i 388 mg/kg, dla Cu między 10,2 i 91,4 mg/kg; natomiast zawartość Pb 8,22–84,2 mg/kg i Cd – 0,18–4,99 mg/kg również różniła się istotnie statystycznie dla badanych materiałów. Tabele II i III pokazują rozkład otrzymanych wyników dla dawców – mężczyzn i kobiet, ze wskazaniem na maksymalne stężenia pierwiastków dla grupy wiekowej 18–50 lat dla obu płci. Stąd obecne badania skoncentrowały się na pomiarach zawartości metali w tej grupie wiekowej u obu płci. Rozkład stężeń metali we włosach jest specyficzny dla płci i można stwierdzić, że różna zawartość pierwiastków śladowych we włosach u obu płci wynika z odmiennych procesów metabolicznych [2]. Stężenia miedzi, ołowiu, kadmu i cynku dla osób poniżej 18 roku życia są istotnie różne od stężeń we włosach osób mających około 50 lat. W grupie młodszej poziomy stężeń tych pierwiastków były niższe. Na przykład stężenie cynku we włosach mężczyzn wzrosło z 80,1 mg/kg w wieku 18 lat do poziomu 170 mg/kg dla mężczyzn w wieku 30 lat i z 299 mg/kg dla mężczyzn 40-letnich do poziomu 388 mg/kg dla pięćdziesięciolatek. Podobnie stężenia Pb, Cd i Cu we włosach wzrastają z wiekiem. Średnie stężenie Cd nie wykazuje jednakże istotnych statystycznie różnic dla grup wiekowych 18–25, 26–35, 36–45, 46–50 lat. Podobnie zaobserwowano, że stężenia Zn i Cu

we włosach kobiet mają tendencję do wzrastania wraz z wiekiem, podczas gdy stężenia Pb nie wykazują istotnych różnic z upływem czasu. Zauważono jednakże, że stężenie Cd gwałtownie wzrastało u kobiet w grupie wiekowej 40–50 lat. Z drugiej strony Kałuża i in. [18] oraz Radomska i in. [33] donoszą, że zawartość miedzi we włosach populacji Polski dla grup wiekowych 75–80 [18] i 16–60 lat [33] jest dużo niższa: odpowiednio 11,2 mg/kg i 13,9 mg/kg. Warto jednak zauważyć, że Sreenivasa Rao i in. [38] zaobserwowali, że zawartość ołowiu i kadmu we włosach mieszkańców Indii nie zmienia się wyraźnie w różnych podgrupach populacji osób w wieku 9–60 lat, natomiast zawartość Zn i Cu u mieszkańców Indii wzrasta wraz z wiekiem.

Współczynniki korelacji między metalami przedstawione są w tabelach IV i V odpowiednio dla mężczyzn i dla kobiet. Wykazano istotny współczynnik korelacji między zawartością Cu i Zn u kobiet ($r > 0,900$) oraz istotną statystycznie korelację ($r > 0,800$) zaobserwowano między Pb i Zn, Cu i Pb, Cu i Cd. We włosach mężczyzn podobnie istotny statystycznie współczynnik korelacji ($r > 0,900$) stwierdzono między Cd i Pb, Cu i Pb, Cu i Cd. Obliczenia regresji (tabela VI) wykazały jednakże przypadkową zmienność w wychwycie metali jako funkcję nagromadzenia metalu, zaś równania regresji sugerują silną zależność średniego stężenia metalu ze średnim wiekiem grup kobiet i mężczyzn, co okazało się istotne dla takich pierwiastków, jak Zn, Pb i Cu.

Kolor włosów pobranych do analizy okazał się kolejną wartością, która może być odpowiedzialna za zmienności w stężeniach pierwiastków śladowych we włosach pobranych z różnych podgrup danej populacji (tabela VII). Okazało się, że czarne włosy u mężczyzn zawierają istotnie wyższe stężenia cynku niż włosy blond czy brązowe u mężczyzn. Zawartość cynku w czarnych włosach u kobiet była wyższa niż u blondynek czy szatynek. Inne różnice, jakie zaobserwowano u dawców obu płci, to mniejsze stężenia cynku we włosach blond niż we włosach czarnych i brązowych. Czarne włosy u mężczyzn zawierały mniej kadmu i więcej ołowiu niż włosy mężczyzn o innych kolorach. Nie zaobserwowano różnic w występowaniu miedzi w zależności od koloru włosów (tabela VII). W przeciwieństwie do płci, nie wykryto istotnej korelacji między kolorami włosów kobiet i mężczyzn a zawartością Cu we włosach.

Należy również podkreślić, że wszystkie badane metale występowały w wyższych stężeniach u palaczy niż u osób niepalących (tabela VII). Największe różnice zaobserwowano dla Pb i Cd, których średnia zawartość u palaczy przewyższała tę u niepalących o niemal 2,5 raza dla Pb i 2 razy dla Cd. Analiza statystyczna (test t-Studenta) dla różnic między średnimi (przeprowadzona na danych przetworzonych logarytmicznie) ujawniła wysoce istotne statystycznie różnice ($p < 0.05$) w poziomie zawartości Zn i Cu we włosach osób palących i niepalących.

Kolejnym aspektem analizy włosów, który wywołał pytania dotyczące zastosowania tej analizy jako narzędzia diagnostycznego, są dane na temat rozmieszczenia pierwiastków śladowych w obrębie włosa. Wykazano [19] zwiększoną zawartość niektórych pierwiastków we włosach pobranych najbliżej skóry głowy (przy korzeniu włosa) w stosunku do ich części najbardziej odległych od skóry głowy, czyli części dystalnych. Przeprowadzając niniejsze doświadczenie zaobserwowano, że średnie stężenia miedzi i ołowiu we włosach pobranych w odległości 2 cm od skóry głowy stanowiły niemalże połowę zawartości wspomnianych analitów we włosach pobranych w części dystalnej: Cu odpowiednio $25,1 \pm 14,5$ mg/kg i $51,2 \pm 20,3$; Pb odpowiednio $16,2 \pm 10,1$ mg/kg i $32,3 \pm 24,6$. Z badań tych wynika, że wyższe stężenia miedzi i ołowiu występują w tej

części włosów, która była dłużej wystawiona na działanie środowiska zewnętrznego, co sugeruje wpływ zewnątrzpochodnej miedzi i ołowiu na ogólne stężenie uzyskane w badaniach.

W badaniach skupiono się również na określeniu zawartości Zn, Cd, Cu i Pb we włosach dawców zamieszkujących dwa obszary województwa śląskiego. Tabela VII podsumowuje wyniki, które uporządkowano ze względu na płeć badanych. Zgodnie z trybem życia badanych społeczeństw, można się spodziewać, że u osób z grupy badawczej (obszar zurbanizowany) będą wyższe poziomy Cd, Cu, Zn i Pb. Mimo że w niniejszych badaniach stężenia wszystkich pierwiastków były wyższe u osób pochodzących z obszaru zurbanizowanego w stosunku do dawców zamieszkujących obszar wiejski, to różnice dla Cd i Cu nie są istotne statystycznie. Jak pokazano w tabeli VII, stężenia pierwiastków różnią się pomiędzy płciami, niemniej stężenia Zn, Cd i Pb na obu badanych obszarach były wyższe we włosach mężczyzn niż we włosach kobiet. Jednakże jedynie różnice dla Zn (oba obszary) i dla Pb okazały się istotne statystycznie ($p < 0.05$). Może to być spowodowane tym, że grunty rolne nawadniane są wodą z miejskich oczyszczalni ścieków, stąd stężenia pierwiastków śladowych w wodzie, glebie, roślinach i u zwierząt są wyższe.

Zwrócono uwagę na fakt, że niniejsze dane korespondują z wynikami dostępnymi w literaturze (tabela VIII), odzwierciedlając średnie stężenia metali we włosach mężczyzn i kobiet, niemniej porównań dokonywano jedynie ze stężeniami metali we włosach mężczyzn analizowanych w obecnych badaniach. Uzyskane stężenia Cd, Pb i Cu nie mają odniesienia do stężeń podanych w literaturze przedmiotu, natomiast stężenia Zn są porównywalne z uzyskanymi w badaniach prowadzonych przez innych autorów [7] dla próbek włosów zebranych u grup etnicznych i terytorialnych zamieszkujących obszar byłego ZSRR, głównie z Rossoszu (Region Woroneński), a także próbek pobranych z obszaru Xiamen w południowych Chinach [43]. Niemniej, porównując je z wynikami uzyskanymi dla innych grup etnicznych, np. Tadżyków z Vorouch (dystrykt Isfara, region Leninabadzki), stężenia cynku we włosach otrzymane w niniejszych badaniach są dużo wyższe niż wyniki podawane przez Batzevicha [5]. W przypadku Cd, Cu i Pb w niniejszych badaniach uzyskano podwyższone stężenia dla Cd o 2,33 mg/kg; 47,6 mg/kg dla Cu i 37,8 mg/kg dla Pb. Wartości te są wyższe niż raportowane zakresy stężeń dla metali: Cd (0,03–0,83 mg/kg) [24], Cu (20,0 mg/kg) [31] i Pb (0,86–8,93 mg/kg) [24]. Warto wspomnieć, że w historycznych próbkach włosów japońskich kobiet pierwiastki takie, jak cynk, miedź i ołów występowały w dużo większym stężeniu niż w obecnych badaniach. Autorzy [41], którzy opublikowali te dane, zinterpretowali podwyższone stężenia jako odzwierciedlające większe wchłanianie pierwiastków w populacjach historycznych i założyli, że było to skutkiem zanieczyszczenia włosów z zewnątrz przez olejki do włosów i kosmetyki. Jak widać z tabeli VIII, zawartość miedzi we włosach populacji Śląska uzyskana w niniejszych badaniach jest niższa niż wartości cytowane przez Radomską i in. [32], Galas i Trzcionkę [14] dla populacji Kanady (63,1 mg/kg) i Stanów Zjednoczonych (108 mg/kg). Podobnie zawartość cynku określona dla populacji Śląska dobrze koresponduje z wynikami otrzymanymi dla mieszkańców Kanady [32], jest jednak wyższa niż wartości dla populacji polskiej otrzymane przez Kałużę i in. [18], Lech i in. [23] i Radomską i in. [33], a niższa niż wyniki otrzymane przez Cho i in. [9] w Korei (obszary zanieczyszczone – 307 mg/kg, obszary niezanieczyszczone 314 mg/kg); natomiast wyższa niż wartości podane przez Galas i Trzcionkę [14] (tabela VIII). Jednakże na

przykład Zaborowska i in. [45] podają, że zawartość cynku we włosach dzieci w wieku szkolnym z obszarów nieurbanizowanych w okolicach Lublina (wieś Urszulin) wyniosła 201 mg/kg.

Wyniki oznaczania zawartości pierwiastków śladowych we włosach ludzkich metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej w technice płomieniowej (FAAS) porównano z wynikami uzyskanymi przy użyciu anodowej woltamperometrii inwersyjnej w technice pulsowej różnicowej (DPASV). Wyniki dla cynku, ołowiu, kadmu i miedzi we włosach ludzkich uzyskane metodą FAAS pokazują wysoką zgodność z wynikami uzyskanymi DPASV (tabela IX). Z linearnej analizy regresji uzyskano korelację dla Zn na poziomie 0,9997, dla Pb 0,9998, dla Cd 0,9995 a dla Cu – 0,9998. Różnica między uzyskanymi wynikami nie jest istotna statystycznie (tabela IX).

W podsumowaniu niniejszej pracy należy stwierdzić, że zaobserwowany rozrzut dla uzyskanych wyników zawartości metali we włosach można rozważać jako wynik oddziaływania różnych czynników z uwzględnieniem rasowych, geograficznych, społecznych i kulturowych, zestawionych z wielością zmiennych, takich jak wystawienie na oddziaływanie czynników środowiskowych, warunków zdrowotnych, nawyków żywieniowych badanych osób, warunków życia, wpływów środowiskowych i itp.