



ICP-OES IN ANALYSIS OF INORGANIC POISONS IN BIOLOGICAL MATERIALS

Józefa Krystyna SADLIK¹, Maria ZAUCHA²

¹ *Institute of Forensic Research, Krakow, Poland*

² *Department of Chemistry, Jagiellonian University, Krakow, Poland*

Abstract

Inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) is a method which allows simultaneous determination of many elements, metals and non-metals, in a broad range of concentrations. There are a limited number of papers in the literature concerning determination of toxic metals and (toxic) non-metals in biological materials by this method. The type and size of the analysed sample as well as the concentration of determined elements are the main limitations of application of this method to analysis of biological materials. Results of application of the ICP-OES method to analysis of samples of internal organs, blood and urine are presented. The aim of the research was to evaluate this method's application to determination of mercury and lead in the mentioned samples. The research encompassed selection of analytical lines having suitable sensitivity, specificity and selectivity as well as estimation of the limit of detection (*LOD*), limit of quantification (*LOQ*), precision and accuracy. Obtained results suggest that the ICP-OES method can be used for mercury and lead determination at concentrations occurring in biological material in cases of acute poisoning. The method revealed relatively weak sensitivity when it was applied to determination of these elements at concentrations close to normal levels. Preliminary results allow us to state that similar conclusions may be drawn concerning other elements normally present in biological material at low concentration levels, e.g. thallium, chromium, and arsenic, but whose concentrations are significantly higher in cases of acute poisoning.

Key words

IP-OES; Mercury; Lead; Toxic concentrations.

Received 2 July 2008; accepted 26 August 2008

1. Introduction

Inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) is a method which allows simultaneous determination of many elements (both metals and non-metals) in a broad range of concentrations. This method is not yet commonly used in Poland. There are a limited number of papers in the literature concerning determination of toxic metals or nonmetals in biological materials by this method.

In the ICP-OES method, a solution of the sample is introduced into argon plasma, whose temperature in various parts of the torch is between 6,000 K and

10,000 K. Various processes are going on in the flame at this temperature, i.e.: solvent evaporation, melting and evaporation of sample, atomisation and ionisation as well as the most important one – excitation of atoms, which emit electromagnetic radiation when they come back to the atomic ground state. This radiation is characteristic for particular elements, because emission spectra are determined by the electron structure of the atom. The intensity of the emitted radiation at wavelengths that are characteristic for the given element depends on the number of its atoms present in the sample, i.e. its concentration. This is the basis of quantitative analysis [2, 11].

The level of difficulty of determinations performed by the ICP-OES method depends on the type of analysed samples, their complexity and features of the applied spectrometer. Biological materials, because of their composition, are amongst the most difficult samples for analysis. Important problems in the ICP-OES method are spectral interferences caused by overlapping of emission lines of the analyte with lines or bands of emission and absorption of interferences, i.e. other components present in the sample [2, 4].

2. Aim

A worked-out method of determination of lead and mercury is presented. This paper is part of a complex research project. Its aim is to evaluate which elements and at what concentrations can be detected and determined in biological material by the ICP-OES method, in order that it can be used as a screening method when an unknown inorganic poison is sought in an analysed sample. Moreover, the method should allow determination of the concentration of the inorganic poison in the same analytical run (simultaneously).

3. Materials and methods

Samples of blood, urine, brain, liver, kidney and stomach were analysed. These samples were digested before the analysis. Two methods of digestion were used, i.e. microwave and classical.

Microwave mineralisation was carried out in MLS 1200 Mega (Milestone, Italy) apparatus with application of nitric acid (5 ml) and hydrogen peroxide (1 ml). 2 g of each of the analysed materials were taken for analysis. Samples were digested according to a five step program: 1) time – 2 min, power 250 W; 2) 2 min, 0 W; 3) 6 min, 250 W; 4) 5 min, 400 W; 5) 5 min, 650 W. The digested samples were filled up to 10 ml.

Classical digestion was carried out in closed glass Bethge apparatus [9]. 20 g of tissue was digested by nitric acid (10 ml) and sulphuric acid (2 ml) and 20 ml of sample was obtained after the mineralisation process.

The simultaneous ICP-OES Thermo Electron iCAP 6300 DUO spectrometer with a CID detector, was used in analysis. Some instrument parameters of the spectrometer were as follows: plasma setting – horizontal, integration time (low wavelengths) – 15 s; power of RF plasma generator – 1150 W; flow of argon (introducing the sample into the plasma) – 0.5 l/min; background correction – left and right points. The following parameters of the spectrometer:

plasma setting, integration time, power of plasma generator, flow of argon which inserts the sample into the plasma, could be optimised for each element, which allows us to obtain better sensitivity, lower detection limits and reduced matrix effects. The values of parameters mentioned above were standard ones, which were not optimised.

The following Merck's reagents were used for sample mineralisation, dilution, standards preparations and equipment washing: conc. nitric acid (65%) Suprapur; conc. sulphuric acid (95–97%) p.a.; hydrogen peroxide (30%) p.a., standards of lead and mercury (1000 g/ml). Water was obtained from NANOpure Diamond Equipment (Barnstead, USA).

It was necessary to take the following steps, amongst others, when working out the method of determination of a particular element [2, 4, 7]:

- select analytical lines which were characterised by suitable sensitivity and were free of interferences;
- evaluate matrix inference related to varying composition of biological materials;
- determine limit of detection *LOD* and limit of quantification *LOQ*;
- estimate accuracy and precision of results.

Calibration curves in the range 0.002–2 g/ml were prepared with the aim of selection of suitable analytical spectral lines and evaluation of matrix effects related to the composition of analysed biological materials in different media:

- aqueous;
- a mixture of reagents used in digestion (without biological matrix, i.e. blank sample); diluted 1:10 and 2,5:10;
- samples of digested biological materials which were diluted as mentioned above.

Analysis was carried out at selected wavelengths: for lead – 182.205; 216.999; 220.353; 261.418; 280.199 and 283.306 nm, for mercury – 184.950; 194.227; 253.653 nm.

LOD and *LOQ* were calculated on the basis of the standard deviation of the blank sample and the method sensitivity according to the following equations:

$$LOD = \frac{3 \cdot s_p}{a}, \quad \{1\}$$

$$LOQ = \frac{10 \cdot s_p}{a}, \quad \{2\}$$

where: $3 \cdot s_p$ and $10 \cdot s_p$ – three and ten times standard deviation of the blank sample; a – method sensitivity expressed as the slope of the calibration plot and calculated using appropriate equations.

Evaluation of method accuracy, because of a lack of reference materials with suitable concentration of lead and mercury, was carried out on the basis of results of samples spiked by a known concentration of particular element before their digestion. Precision was estimated by calculation of standard deviation on the basis of results of multiple analysis ($n = 10$) of the same samples.

Results obtained by the calibration curve method and the standard addition method were compared with the aim of selecting the most suitable calibration method. Observed differences in results were analysed by application of the F-Snedecor test at 0.05 significance level.

4. Results

Calibration plots for lead prepared for aqueous solutions and solutions obtained after digestion of biological samples indicated that the best sensitivity could be obtained at wavelength of 220.353 nm. Some points of plots, related to samples obtained after digestion of biological materials at wavelength of 261.418 and 280.199 nm were located below zero on the y-axis. This means that interferences occurred at these wavelengths.

No significant differences between signal intensities obtained at wavelength of 220.353 nm for samples of biological matrices, the blank samples and aqueous solutions after microwave digestion were observed.

A significant reduction of the signal at this wavelength was affirmed for lead added to biological material and blank samples in comparison to aqueous solution, when the samples were classically digested in Bethge apparatus. Therefore a sulphuric acid matrix is not useful in the case of lead analysis. It could be added that sulphuric acid used for digestion could cause precipitation of this metal in the form of sulphates, leading to a loss of analyte. Further results concern lead determination in samples after microwave mineralisation.

Table I presents *LOD* and *LOQ* for wavelengths of 220.353 nm and 182.205 nm, for which matrix effects were not observed. The lowest *LOD* and *LOQ* were respectively ca. 0.03 and 0.08 $\mu\text{g/g}$ of tissue and were obtained at wave 220.353 nm and dilution of digested sample 2.5 : 10.

Results concerning accuracy and precision of the method are shown in the Table II and III.

TABLE I. LEAD – LIMITS OF DETECTION AND QUANTIFICATION (*LOD*, *LOQ*)

Dilution [nm]	1 : 10		2.5 : 10	
	220.353	182.205	220.353	182.205
<i>LOD</i> [$\mu\text{g/g}$]	0.10	0.23	0.028	0.11
<i>LOQ</i> [$\mu\text{g/g}$]	0.30	0.80	0.08	0.36

TABLE II. LEAD – ACCURACY OF THE METHOD

Addition [g/g]	c_{mean} [$\mu\text{g/g}$] Recovery [%]			
	dilution 1 : 10		dilution 2.5 : 10	
	220.353*	182.205*	220.353*	182.205*
20.0	20.9 104.5	20.8 103.5	20.6 103.0	20.5 102.5
5.0	5.42 108.4	5.40 108.0	5.35 107.0	5.35 107.0
0.5	0.49 98.3	0.51 103.0	0.52 104.0	0.44 88.0

* Wavelength, in nm.

TABLE III. LEAD – PRECISION OF THE METHOD

Addition [g/g]	<i>RSD</i> [%]			
	dilution 1 : 10		dilution 2.5 : 10	
	220.353*	182.205*	220.353*	182.205*
20.0	3.53	3.97	3.78	3.64
5.0	1.23	2.61	1.72	4.18
0.5	1.54	5.04	1.61	5.00

* Wavelength, in nm.

Mean recovery of lead added to analysed materials before digestion at concentrations of 0.50, 5.0 and 20.0 $\mu\text{g/g}$ of tissue was ca. 100%, and mean relative standard deviation (*RSD*) was 3.09%. When 0.050 $\mu\text{g Pb/g}$ tissue was added, i.e. below *LOD*, then mean recovery was ca. 100%, but the scatter of obtained results was very large and *RSD* was above 60%.

Table IV presents results of Pb determination in brain and liver samples when 5 g Pb/g was added to these tissues, obtained by various calibration methods: a calibration curve method with series of standards prepared in water, blank sample, digested brain and liver samples, without Pb addition, and by application of the standard addition method. Analysis of variance showed that there are no significant differences be-

tween results obtained by application of various calibration methods at significance level 0.05. Therefore, it was concluded that calibration by application of a calibration plot drawn up on the basis of standards prepared using blank sample is the most useful for Pb determination [11, 12].

TABLE IV. LEAD – SELECTION OF CALIBRATION METHOD

Calibration method		Brain	Liver
		Mean concentration [µg/g]	
Calibration curve	Water	5.25	5.32
	Blank sample after digestion	5.14	5.13
	Digested tissue	5.24	5.09
Standard addition		5.24	5.09

Analysis of variance: results obtained by various calibration methods are the same at significance level = 0.01

Table V presents ranges of Pb concentrations determined in fatal poisoning cases involving organic and inorganic compounds as well as ranges of normal concentrations.

TABLE V. LEAD – RANGES OF CONCENTRATIONS IN BIOLOGICAL MATERIAL [1, 3, 8, 9, 10] AND COMPARISON WITH *LOD* AND *LOQ*

Material	Concentration [µg/g, µg/ml]	
	Fatal poisonings	Normal
Brain	1.00–26.0	0.02–0.78
Liver	5.00–104	0.18–3.10
Kidney	4.00–46.0	0.15–1.90
Stomach	1.4–195	–
Blood	0.30–14.6	up to 0.06
Urine	0.60–30.0	up to 0.002
<i>LOD</i> = 220.353	0.03	
<i>LOQ</i> = 220.353	0.08	

These data are based on information published in various papers as well as the authors' own work. *LOQ* at 220.353 nm is at least several times lower than the lowest concentration obtained in the case of poison-

ings. Comparing *LOQ* with normal Pb concentrations shows that the ICP-OES method should allow determination of some higher levels of normal concentrations. Similar analyses to those presented above for lead were carried out for mercury. The 194.227 nm line was chosen for analysis on the basis of the course of calibration plots. It was characterised by the best sensitivity and a lack of matrix effects. *LOQ* was 0.1 g Hg/g of tissue for this wavelength.

Table VI presents ranges of mercury concentrations in cases of fatal and non-fatal poisoning as well as ranges of normal concentrations. Comparison of these concentrations with *LOQ* showed that mercury could be detected and determined by the worked out method in cases of poisoning whereas most normal concentrations were below *LOQ*.

TABLE VI. MERCURY – RANGES OF CONCENTRATIONS IN BIOLOGICAL MATERIALS [1, 3, 5, 6, 10] AND COMPARISON WITH *LOQ*

Material	Concentrations [µg/g, µg/ml]		
	Poisonings		Normal
	Fatal	Non-fatal	
Brain	0.20–41.0	–	up to 0.014
Liver	3.90–79.0	–	0.0028–0.055
Kidney	2.40–47.0	–	0.0032–0.17
Stomach	0.60–22.0	0.30–2.80	up to 0.0065
Blood	0.80–70.0	0.15–13.0	up to 0.0026
<i>LOQ</i> = 194.227	0.10		

5. Conclusions

It may be concluded on the basis of performed research that the ICP-OES method allows detection and determination of lead and mercury in biological materials in poisoning cases. It is known on the basis of the authors' other experiences that similar conclusions could be drawn for other elements in biological materials, e.g. thallium, chromium and arsenic.

The ICP-OES method could be a useful tool in toxicological analysis. It could be used as a screening method which allows detection and determination of many metals and some nonmetals in one analytical run. This method significantly broadens the possibilities of inorganic poisons analysis in toxicological laboratories.

References

1. Baselt R. C., Disposition of toxic drugs and chemicals in man, Biomedical Publications, Foster City 2004.
2. Bulska E., Wachowicz J. W., Piaścik M. [i in.], Zastosowanie metody ICP-OES w badaniach porównawczych wybranych śladów kryminalistycznych, *Problemy Kryminalistyki* 2001, 234, 12–31.
3. Gouille J. P., Mahieu L., Castermant J. [et al.], Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair. Reference values, *Forensic Science International* 2005, 153, 39–44.
4. Jaroń I., Źródła błędów i ich eliminacja w technice ICP, Konferencja „Sposoby unikania błędów w analityce, czy „walka z wiatrakami?”, Ślesin, 20–22 maja 2002.
5. Lech T., Sadlik J. K., Kobylecka K., Acute and chronic poisoning with mercury and its compounds, *Problems of Forensic Sciences* 1998, 38, 55–78.
6. Lech T., Sadlik J. K., Mercury levels in human autopsy from a nonexposed Polish population, *Archives of Environmental Health* 2004, 59, 50–54.
7. Rahil-Khazen R., Henriksen H., Bolann B. J. [et al.], Validation of inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry technique (ICP-AES) for multi-element analysis of trace elements in human serum, *Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation* 2000, 60, 677–686.
8. Rahil-Khazen R., Bolann B. J., Myking A. [et al.], Multi-element analysis of trace elements levels in human autopsy tissues by using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry technique (ICP-AES), *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2002, 16, 15–25.
9. Sadlik J. K., Analityczne i toksykologiczne aspekty zatruc tetraetylołowiem [rozprawa doktorska, Uniwersytet Jagielloński, Kraków 1994].
10. Sumino K., Hayakawa K., Shibata T. [et al.], Heavy metals in normal Japanese tissues, *Archives of Environmental Health* 1975, 30, 487–494.
11. Szczepaniak W., Metody instrumentalne w analizie chemicznej, PWN, Warszawa 1999.
12. Zaucha M., Oznaczanie ołowiu metodą ICP-OES w materiale biologicznym [praca magisterska, Uniwersytet Jagielloński, Kraków 2008].

Corresponding author

Józefa K. Sadlik
Instytut Ekspertyz Sądowych
ul. Westerplatte 9
PL 31-033 Kraków
e-mail: jsadlik@ies.krakow.pl

METODA ICP-OES W ANALIZIE MATERIAŁU BIOLOGICZNEGO NA OBECNOŚĆ TRUCIZN NIEORGANICZNYCH

1. Wprowadzenie

Optyczna spektrometria emisyjna z plazmą wzbudzoną indukcyjnie (ICP-OES) jest metodą służącą do jednoczesnego oznaczania wielu pierwiastków, metali i niemetalu w szerokim zakresie stężeń, ale w piśmiennictwie fachowym niewiele jest prac dotyczących oznaczania przy jej wykorzystaniu toksycznych metali w materiale biologicznym. W Polsce metoda ICP-OES nie jest jeszcze szeroko rozpowszechniona.

W metodzie ICP-OES próbka w postaci roztworu wprowadzana jest do płomienia – plazmy argonowej, której temperatura wynosi, w różnych częściach palnika, od około 6000 K do 10 000 K. W temperaturze plazmy zachodzi szereg różnorodnych procesów: odparowanie rozpuszczalnika, stapianie i parowanie próbki, atomizacja i jonizacja oraz proces najważniejszy – wzbudzenie atomów, które, wracając do stanu podstawowego, emitują wchłoniętą energię w postaci promieniowania elektromagnetycznego. Promieniowanie to jest charakterystyczne dla danego pierwiastka, ponieważ widma emisyjne są ściśle związane ze strukturą elektronową atomu. Natężenie emitowanego promieniowania przy charakterystycznych dla danego pierwiastka długościach fal jest proporcjonalne do liczby jego atomów w próbce, a więc jego stężenia, co jest podstawą analizy ilościowej [2, 11].

Stopień trudności oznaczeń metodą ICP-OES zależy od rodzaju analizowanych próbek, ich złożoności oraz od możliwości spektrometru. Materiały biologiczne, ze względu na swą złożoność, są uważane za jedne z trudniejszych do analizy tą metodą. Najpoważniejszym problemem w metodzie ICP-OES są interferencje spektralne spowodowane nakładaniem się linii emisyjnych analitu i linii lub pasm emisyjnych i absorpcyjnych interferentów, czyli innych składników próbki [2, 4].

2. Cel pracy

W pracy przedstawiono metodę oznaczania ołowiu oraz rtęci. Praca ta stanowi część większej całości. Jej celem jest ocena, które pierwiastki i w jakich stężeniach, normalnych i toksycznych, mogą być wykryte i oznaczone w materiale biologicznym metodą ICP-OES, tak, by mogła ona służyć jako metoda przeglądowa przy poszukiwaniu nieznanego trucizny nieorganicznej, a równocześnie pozwalała na określenie jej stężenia w tym samym toku analizy.

3. Materiał i metody

Badanymi materiałami były próby krwi, moczu oraz wycinki mózgu, wątroby, nerki i żołądka. Przed oznaczeniem próbki badanych materiałów mineralizowano. Stosowano dwa rodzaje mineralizacji, które mogą się wzajemnie uzupełniać, to jest mineralizację mikrofalową oraz mineralizację klasyczną.

Mineralizację mikrofalową przeprowadzano w mineralizatorze MLS 1200 Mega firmy Milestone (Włochy) za pomocą kwasu azotowego (5 ml) i nadtlenu wodoru (1 ml). Do analizy pobierano po 2 g badanych materiałów. Próbkę mineralizowano zgodnie z pięciostopniowym programem: 1) czas – 2 min, moc 250 W; 2) 2 min, 0 W; 3) 6 min, 250 W; 4) 5 min, 400 W; 5) 5 min, 650 W. Otrzymane mineralizaty uzupełniano do 10 ml.

Mineralizację klasyczną przeprowadzano w aparatach Bethgego [9] z obiegiem zamkniętym. Mineralizowano 20 g tkanki kwasem azotowym (10 ml) oraz siarkowym (2 ml) i uzyskiwano 20 ml mineralizatu.

Aparat, za pomocą którego przeprowadzano badania, to spektrometr ICP-OES firmy Thermo Electron iCAP 6300 DUO z detektorem CID, pracujący w trybie równoczesnym. Niektóre warunki pracy spektrometru przedstawiały się następująco: ustawienie plazmy – poziome; czas integracji (niskie długości fali) – 15 s; moc generatora plazmy RF – 1150 W; przepływ argonu wprowadzającego próbkę do plazmy – 0,5 l/min; korekcja tła – dwupunktowa. Parametry pracy spektrometru, takie jak ustawienie plazmy, czas integracji, moc generatora plazmy, przepływ argonu wprowadzającego próbkę do plazmy można dla poszczególnych pierwiastków optymalizować, uzyskując lepszą czułość, niższe granice oznaczalności albo mniejsze efekty matrycowe. Podane wyżej warunki pracy są warunkami standardowymi, których nie optymalizowano.

Do mineralizacji próbek, wykonywania rozcieńczeń, przygotowywania wzorców i mycia naczyń stosowano odczynniki firmy Merck: kwas azotowy stężony (65%), Suprapur; kwas siarkowy stężony (95–97%) p.a.; nadtlenuk wodoru (30%) p.a., podstawowe wzorce ołowiu i rtęci o stężeniu 1000 g/ml oraz wodę otrzymaną z aparatu NANOpure Diamond firmy Barnstead (Stany Zjednoczone).

Na etapie opracowania metody oznaczania danego pierwiastka należało m.in. [2, 4, 7]:

- wybrać linie analityczne o odpowiedniej czułości wolne od zakłóceń (interferentów);
- ocenić wpływy matrycowe związane ze składem różnych materiałów biologicznych;

- określić granice wykrywalności *LOD* i oznaczalności *LOQ*;
- określić dokładność i powtarzalność wyników.

Celem wyboru odpowiednich linii analitycznych oraz oceny wpływów matrycowych związanych ze składem badanych materiałów biologicznych przygotowano krzywe wzorcowe dla zakresu stężeń 0,002–2 g/ml:

- w roztworze wodnym;
- w mieszaninie odczynników (bez matrycy biologicznej, tzw. próbie ślepej), po mineralizacji mikrofalowej rozcieńczonej w stosunku 1:10 i 2,5:10;
- w mineralizatach badanych materiałów rozcieńczonych tak, jak podano wyżej.

Pomiary przeprowadzono przy kilku różnych długościach fal: dla ołowiu – 182,205; 216,999; 220,353; 261,418; 280,199 i 283,306 nm, dla rtęci – 184,95; 194,227 i 253,653 nm.

LOD i *LOQ* wyznaczano na podstawie odchylenia standardowego próby ślepej oraz czułości metody według poniższych wzorów:

$$LOD = \frac{3 \cdot s_p}{a}, \quad \{1\}$$

$$LOQ = \frac{10 \cdot s_p}{a}, \quad \{2\}$$

gdzie: $3 \cdot s_p$ i $10 \cdot s_p$ – trzykrotne i dziesięciokrotne odchylenie standardowe próby ślepej; a – czułość metody rozumiana jako nachylenie prostej wzorcowej, odczytowane z odpowiednich równań.

Ocenę dokładności metody, ze względu na brak materiałów odniesienia o odpowiednim stężeniu ołowiu i rtęci, oparto na wynikach oznaczeń tych metali dodanych w znanych ilościach do próbek badanych materiałów biologicznych przed ich mineralizacją. Precyzję mierzoną względnym odchyleniem standardowym oszacowano poprzez wielokrotną analizę ($n = 10$) tych samych próbek.

W celu wyboru odpowiedniej metody kalibracyjnej porównano wyniki oznaczeń uzyskane metodą krzywych wzorcowych oraz metodą dodatku wzorca. Ocenę różnic w wynikach przeprowadzono za pomocą testu F-Snedecora na poziomie istotności 0,05.

4. Wyniki

Z przebiegu krzywych wzorcowych dla ołowiu wyznaczonych dla roztworu wodnego oraz roztworów uzyskanych po mineralizacji mikrofalowej materiałów biologicznych wynikało, że najwyższą czułość uzyskano dla fali o długości 220,353 nm. Niektóre punkty leżące na prostych wyznaczonych dla mineralizatów materiałów biologicznych przy długościach fal 261,418 i 280,199 nm znajdowały się poniżej wartości zero na osi rzędnych, co

oznacza, że przy tych długościach fali występują interferencje.

Dla roztworów po mineralizacji mikrofalowej, przy pomiarze przy długości fali 220,353 nm, nie obserwowano zasadniczych różnic w intensywności sygnału uzyskanego dla badanych matryc biologicznych, próby ślepej i wody. Dla mineralizacji klasycznej w aparatach Bethgego przy tej długości fali intensywność sygnału ołowiu dodanego do materiałów biologicznych, a także próby ślepej, była znacznie obniżona w porównaniu do roztworu wodnego. W przypadku analizy ołowiu matryca kwasu siarkowego stosowanego w tej mineralizacji nie jest zatem korzystna. Można dodać, że kwas siarkowy stosowany do mineralizacji, przy wysokich stężeniach Pb, może powodować wytrącanie się tego metalu w postaci siarczanu, co prowadzi do strat analitu. Dalsze wyniki badań dotyczą w związku z tym oznaczeń ołowiu w materiale po mineralizacji mikrofalowej.

W tabeli I przedstawiono *LOD* i *LOQ* dla fali 220,353 nm oraz 182,205 nm, przy której również nie obserwowano wpływów matrycowych. Najniższe *LOD* i *LOQ*, wynoszące odpowiednio około 0,03 i 0,08 µg/g tkanki, otrzymano przy fali 220,353 nm i rozcieńczeniu mineralizatu 2,5 : 10.

Wyniki związane z oceną dokładności i precyzji przedstawiono w tabelach I i II.

Średni odzysk ołowiu dodanego do badanych materiałów przed mineralizacją w stężeniach 0,50, 5,0 i 20,0 µg/g tkanki wynosił około 100%, a średnie względne odchylenie standardowe *RSD* metody wynosiło 3,09%. Przy dodatku 0,050 µg Pb/g tkanki, a więc poniżej *LOD*, średni odzysk wynosił około 100%, ale rozrzut wyników był bardzo duży: *RSD* wynosiło nieco ponad 60%.

W tabeli IV przedstawiono wyniki oznaczeń Pb w wyinkach mózgu i wątroby, do których dodano 5 g Pb/g tkanki uzyskane różnymi metodami kalibracji: metodą krzywej wzorcowej z seriami wzorców przygotowanych w różnych matrycach: wodzie, mineralizatach próby ślepej oraz mózgu i wątroby, bez dodatku Pb, oraz metodą dodatku wzorca. Analiza wariancji wykazała, że nie ma istotnych statystycznie różnic pomiędzy wynikami otrzymanymi za pomocą różnych metod kalibracji na poziomie istotności 0,05. W związku z tym przyjęto, że do oznaczeń Pb najkorzystniej jest wybrać kalibrację metodą krzywej wzorcowej z wykorzystaniem roztworów wzorcowych sporządzanych na bazie mineralizatów prób ślepych [11, 12].

W tabeli V przedstawiono opracowane na podstawie piśmiennictwa i doświadczenia auterek zakresy stężeń Pb spotykane w przypadkach śmiertelnych zatruc organicznymi i nieorganicznymi związkami Pb oraz zakresy stężeń normalnych. W przypadkach zatruc, *LOQ* przy 220,353 nm jest co najmniej kilkakrotnie niższa niż najniższe notowane w takich przypadkach stężenia. Porównując *LOQ* z normalnymi stężeniami ołowiu, można

wysnuć wniosek, że metoda ICP-OES pozwoliłaby również na oznaczenie niektórych wyższych poziomów stężeń normalnych.

Podobne badania, jak przedstawione wyżej dla ołowiu, wykonano dla rtęci. Na podstawie przebiegu krzywych wzorcowych do pomiarów wybrano linię 194,227, która charakteryzowała się największą czułością i brakiem wpływów matrycowych. Dla tej linii uzyskana *LOQ* wynosiła 0,1 g Hg/g tkanki.

W tabeli VI przedstawiono zakresy stężeń rtęci stwierdzone w przypadkach zatruc śmiertelnych i zatruc ostrych niezakończonych zgonem oraz zakresy stężeń normalnych. Porównanie tych stężeń z *LOQ* wskazuje, że rtęć w przypadkach zatruc może być nie tylko wykryta, ale i oznaczona opracowaną metodą. Przeważająca część stężeń normalnych znajdowała się poniżej *LOQ*.

5. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań można wyciągnąć wnioski, że metoda ICP-OES w przypadkach zatruc pozwala na wykrycie i oznaczenie ołowiu i rtęci w materiale biologicznym. Wiadomo, na podstawie już zdobytych doświadczeń, że podobne wnioski mogą dotyczyć innych pierwiastków występujących normalnie w materiale biologicznym na niskich poziomach, np. talu, chromu czy arsenu.

ICP-OES może być użytecznym narzędziem w analizie toksykologicznej, służyć jako metoda przeglądowa pozwalająca na wykrycie wielu metali, a także niektórych niemetałów, oraz ich oznaczenie w jednym toku analitycznym. Metoda ta poszerza znacznie możliwości laboratorium toksykologicznego w zakresie analizy trucizn nieorganicznych.