

آنالیز نمونه های بیولوژیکی استاندارد آژانس بین المللی انرژی اتمی

احمد قریب

مرکز تحقیقات هسته‌ای - سازمان انرژی اتمی ایران

چکیده

دقت و حساسیت آنالیز عناصر کم مقدار در مواد می‌تواند با اجرای یک برنامه همکاری بین آزمایشگاههای مختلف از طریق روشهای تحزیه مقایسه‌ای تامین گردد. به همین دلیل آژانس بین‌المللی انرژی اتمی برنامه‌های کنترل کیفی آنالیتیکی را با همکاری کشورهای علاقمند به اجرا گذاشته است.

بخش شیمی مرکز تحقیقات هسته‌ای نیز در برنامه‌ای تحت عنوان "مقایسه میزان عناصر کم مقدار در نمونه استخوان آژانس (Intercomparison of Minor and Trace Elements in IAEA Animal Bone, H - 5) به خاطر کمک، به امر فوق و اهداف خاص خود شرکت کرده است.

مجموعه نتایج این برنامه در گردهمایی آژانس که در نوامبر ۱۹۸۱ در شهر دلفت هلند برگزار شد ارائه گردید. در مقایسه با سایرین، این مرکز نیز با نتایج قابل قبول، بین ۴۳ آزمایشگاه بین‌المللی موفقیت داشت.

اهمیت وجودی عناصر کم مقدار در مواد بیولوژیکی و نقش آنها در تعادلات متابولیکی سبب پیدایش تفکر تحقیق در مورد جستجو و تعیین این عناصر در بافتهای بدن و مواد غذایی شده است. این تفکر همواره دو هدف را پیش روی داشته است :

۱- دستیابی به اطلاعاتی درباره میزان عناصر کم مقدار در این مواد و رابطه آن با متالو-آنزیمها و بالاخره کشف اینکه : چه عناصر جدید دیگری ممکن است در زمره عناصر ضروری یا سمی قرار گیرد.

۲- دستیابی به نیازهای اعضای بدن به مواد لازم و تامین آن از طریق تغذیه.

تحقق این هدفها، به علت وجود مشکلات متعدد در اندازه گیری آنها به خاطر پایین بودن مقدار این عناصر (10^{-6} - 10^{-12} ug/g) در مواد مختلف نظیر بافتها و مواد غذایی از طرفی، و تاثیر مجموعه ماده مورد بررسی بر عنصر مورد اندازه گیری از طرف دیگر، اتخاذ یک برنامه کنترل کیفی آنالیتیکی را در تجزیه مواد ایجاب می کند. از آنجا که این بررسی، منابع خطای زیادی (مانند نمونه برداری، آماده سازی نمونه، روشهای شیمیایی تا محاسبه و ثبت نتایج) را در بردارد و انجام یک آزمایش به تنهایی نمی تواند جوابگوی دقت و حساسیت اندازه گیریها باشد، بنابراین یک روش مطالعه همه جانبه به نحوی که تمام خطاها را به کمترین حد ممکن برساند ضروری است.

آژانس بین المللی انرژی اتمی برنامه گسترده ای را برای پاسخگویی به این نیاز بعهده گرفته و نمونه های مختلف از مواد بیولوژیکی، یا هر ماده دیگری را به مقدار زیاد تهیه کرده در دسترس آزمایشگاههای متعددی در سراسر دنیا قرار می دهد، تا هر آزمایشگاه بنا بر تجربه و امکانات آزمایشگاهی خود اندازه گیری لازم را با روشهای مختلف انجام و نتایج را به آژانس عودت دهد. آژانس تمام نتایج را که با انواع روشهای آنالیتیکی انجام شده است جمع بندی و نتایج را از طریق آماری دسته بندی و گزارش می کند. این گزارش برای تمام شرکت کنندگان در این برنامه فرستاده می شود تا اولاً " هر شرکت کننده دقت و حساسیت کار خود و سیستم مورد استفاده اش را در مقایسه با سایرین متوجه شود و ثانیاً " از آن پس یک استاندارد مناسب و کاملاً " قابل اعتماد جهت پژوهشهای آنالیتیکی بعدی خود در اختیار داشته باشد.

بخش شیمی مرکز تحقیقات هسته ای نیز با توجه به ماهیت کارهایش و علاقمندی به شرکت در طرحهای پژوهشی و عمدتاً " به منظور تعقیب برخی از هدفهای گروه رادیوشیمی در یکی از این برنامه ها تحت عنوان " مقایسه میزان عناصر کم مقدار در نمونه استخوان در آژانس بین المللی انرژی اتمی (Intercomparison of Minor and Trace Elements in IAEA Animal Bone H - 5) شرکت کرده است. هدفهای گروه رادیوشیمی در زیر بطور خلاصه

ارائه شده است :

- بررسی و ارزیابی روشهای تجزیمای در این مرکز .
- بالا بردن کیفیت روشها و تکنیکهای تجزیه .
- بدست آوردن استانداردهای (CRM_S *) بین‌المللی بدون صرف هزینه .
- کسب کلیه اطلاعات بدست آمده در مورد این استاندارد توسط کشورهای شرکت کننده .
- شناساندن مقبولیت این مرکز در سطح جهانی از نظر پژوهشهای تجزیمای .

شرح آزمایش :

طبق گزارش آژانس یک نمونه ۲۰ گرمی از ۲۰ کیلوگرم پودر استخوان (powder H - 5 IAEA animal bone) که تمام اصول علمی در نمونه‌برداری و تهیه آن کاملاً رعایت شده است ، برای هر یک از شرکت کننده‌ها فرستاده شد . اندازه ذرات این پودر کمتر از ۱۲۵ μm بوده و در آخرین مرحله تهیه توسط یک دز ۵ مگارد (۵ M Rad) از پرتوهای گاما استرلیزه شده است . بدین قرار تصور می‌شود محتوای این نمونه گذشته از آب و چربی ، نماینده کامل یک استخوان طبیعی باشد . این نمونه شامل مواد آلی و معدنی است که ۳۵ درصد آن را پروتئین تشکیل می‌دهد . ضمناً طی مراحل تهیه نمونه (مانند تماس با تیغه‌های فولاد زنگ نزن) ممکن است عناصری ، بطور خیلی جزئی ، آنرا آلوده کرده‌باشند ولی اندازه‌گیری کبالت و کرم نشان می‌دهد که احتمال این آلودگی بسیار ناچیز می‌تواند باشد . رطوبت این نمونه برحسب نوع نگهداری بین صفر تا ۵ درصد ، قابل تغییر است به‌رحال نتایج مقدار گزارش شده باید بر مبنای وزن خشک نمونه باشد .

به منظور اندازه‌گیری در این آزمایشگاه حدود یک گرم از نمونه مذکور دقیقاً " توزین و به یک بالن ته‌گرد دو دهانه که به یک ترمومتر و یک سرد کننده اتصال دارد منتقل می‌شود . در این مرحله چند سانتیمتر مکعب آب دو بار تقطیر و ۱۵ سانتیمتر مکعب اسید نیتریک کاملاً خالص به آن اضافه شده و مدتی به شدت حرارت داده می‌شود . سپس آن را سرد نموده و ده سانتیمتر مکعب آب اکسیژنه به آن می‌افزاییم . محتوای بالن را برای ۱ تا ۲ ساعت دیگر حرارت می‌دهیم تا یک محلول کاملاً شفاف حاصل شود . این محلول را به یک بالن ژوژه ۱۰۰^{cc} منتقل کرده و به حجم می‌رسانیم . نمونه‌هایی که بدین ترتیب بدست می‌آیند برای اندازه‌گیری توسط دستگاه جذب اتمی مورد استفاده قرار می‌گیرند . نتایج این اندازه‌گیری با جدول شماره ۱ منعکس است . بطور کلی بررسی دقیق نتایج حاصل از روش‌های مختلف نشان می‌دهد که پراکندگی نتایج برای هر روش تجزیه یکسان نیست . به عبارت دیگر در صورتی که نتایج اندازه‌گیریهای بدست آمده را در مورد هر روش تجزیه ، در مقابل آزمایشگاههای مختلف رسم کنیم احتمالاً " دیاگرامی نظیر شکل ۱ بدست خواهد آمد .

* Certified Reference Material(s)

نام عنصر	شعله یا تکنیک مورد استفاده در جذب اتمی	اندازه‌گیریها	میانگین 26.75%	درصد خطا SD. E
Ca	اکسیدازت استیلین	28%, 26%, 27%, 26%, 28.7%	26,75%	3.6%
Cu	هوا - استیلین	14.5, 14.6, 16.2 PPM	15.1PPm	6.3%
Fe	=	190, 224, 224, 214 "	213 "	7.5%
Hg	=	0.014, 0.14, 0.013 "	0.014"	4.2%
K	بخار سرد	1214, 1171, 1285, 1142, 1214"	1205 "	4.5%
Mg	هوا - استیلین	4177, 3684, 3789, 3664, 3828"	3828 "	5.4%
Mn	اکسیدازت - استیلین	13.0, 14.5, 18.2, 14.5 "	15.0 "	14.7%
	=	=		

نتایج مربوط به این پژوهش توسط آژانس بین‌المللی انرژی اتمی در یک گردهمایی که در شهر دلفت هلند تشکیل گردید ارائه شد (۴). این گزارش مجموعهای بود از نتایج ۴۳ آزمایشگاه بین‌المللی که در آن نتایج مرکز تحقیقات هسته‌ای هم مورد تایید قرار گرفت. در شکلهای زیر که عیناً از گزارش آژانس اقتباس شده، کد ۳۴ متعلق به بخش شیمی مرکز تحقیقات هسته‌ای است. در این شکلیا حرف داخل هر دایره نماینده تجربه گزارش دهنده است که حروف A, B, C و O به ترتیب تجربه‌های بیشتر به کمتر را نشان می‌دهند. حرف بالای دایره به شرح زیر نماینده روش مورد استفاده است:

A_i = روش های جذب اتمی

C = روش اسپکتروفتومتری

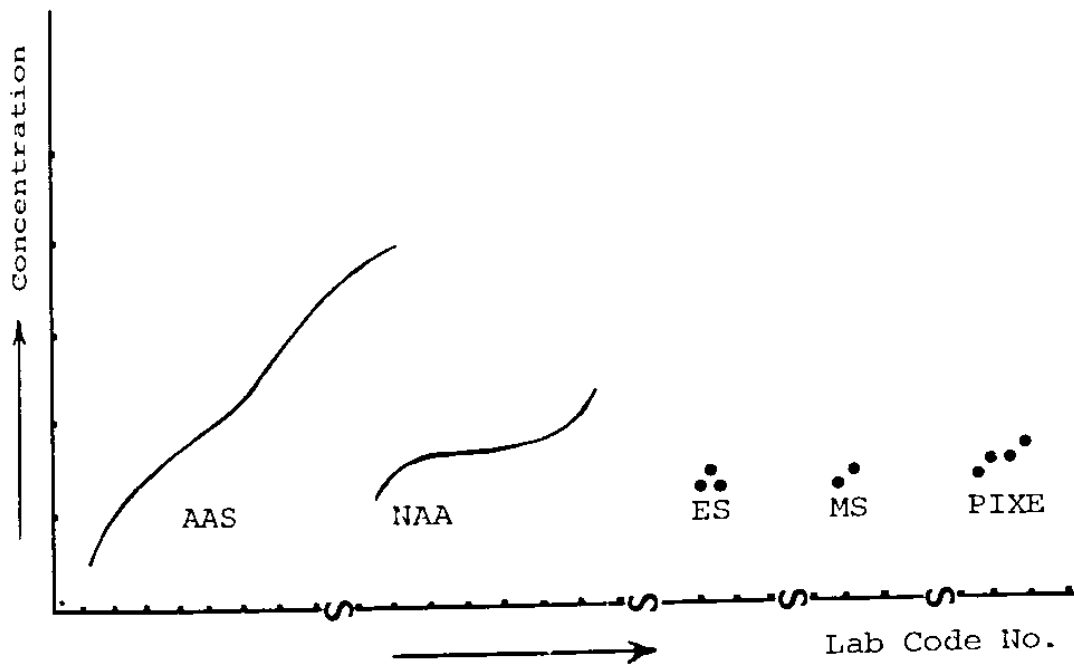
E_i = روش های نشر اتمی

G = روش گاما اسپکتروسکوپی (۸ Prompt)

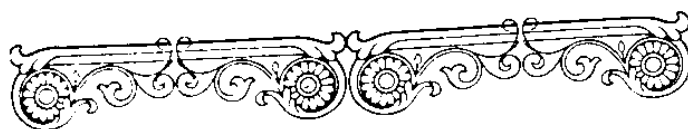
N_i = روش‌های تجزیه به طریق اکتیو کردن

و بالاخره عدد پایین هر دایره نماینده تعداد دفعات اندازه‌گیری است. روش جذب اتمی در تمام موارد ذکر شده در این یادداشت ۳۶ تا ۵۵ درصد نتایج رابه‌خود اختصاص داده است. در روش تجزیه به طریق اکتیو کردن، حدود ۳۰ درصد و روش X-Ray صرفاً ۱۲ درصد کل نتایج را شامل بوده است. نتایج روشهای گزارش شده برای عناصر مورد بحث به خوبی نشان می‌دهد که پراکندگی عناصر فراوانتر به مراتب کمتر از پراکندگی عناصر کم مقدار است، بطوریکه در این مورد پراکندگی

شکل ۱ - پراکندگی نتایج، بر حسب روش‌ها و آزمایشگاه‌های مختلف



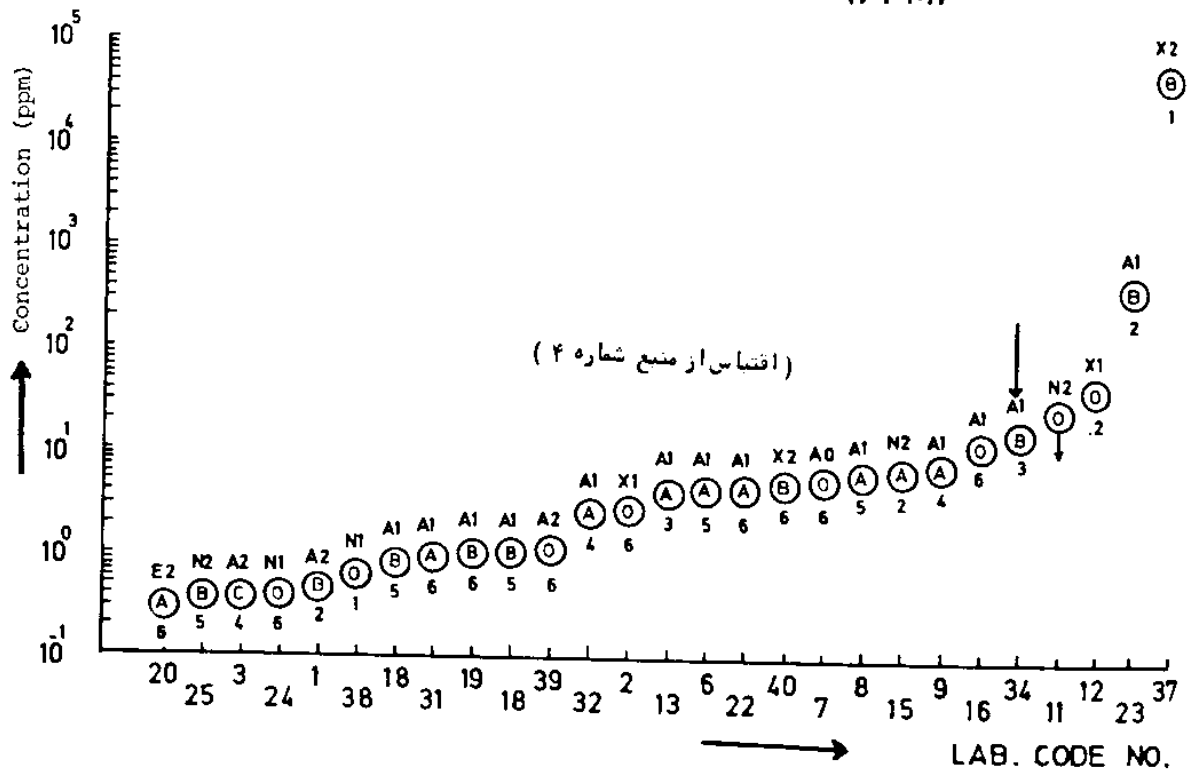
نتایج تقریباً "مستقل از نوع روش مورد استفاده است". در عین حال ملاحظه می‌شود که پراکندگی نتایج برای روش تجزیه به طریق اکتیو کردن از سایر روش‌ها کمتر است. گرچه تعداد روش‌های تجزیه رادیوشیمیایی به خاطر عدم سهولت کمتر است ولی اکثر نتایج مذکور به میانگین نزدیک‌ترند.



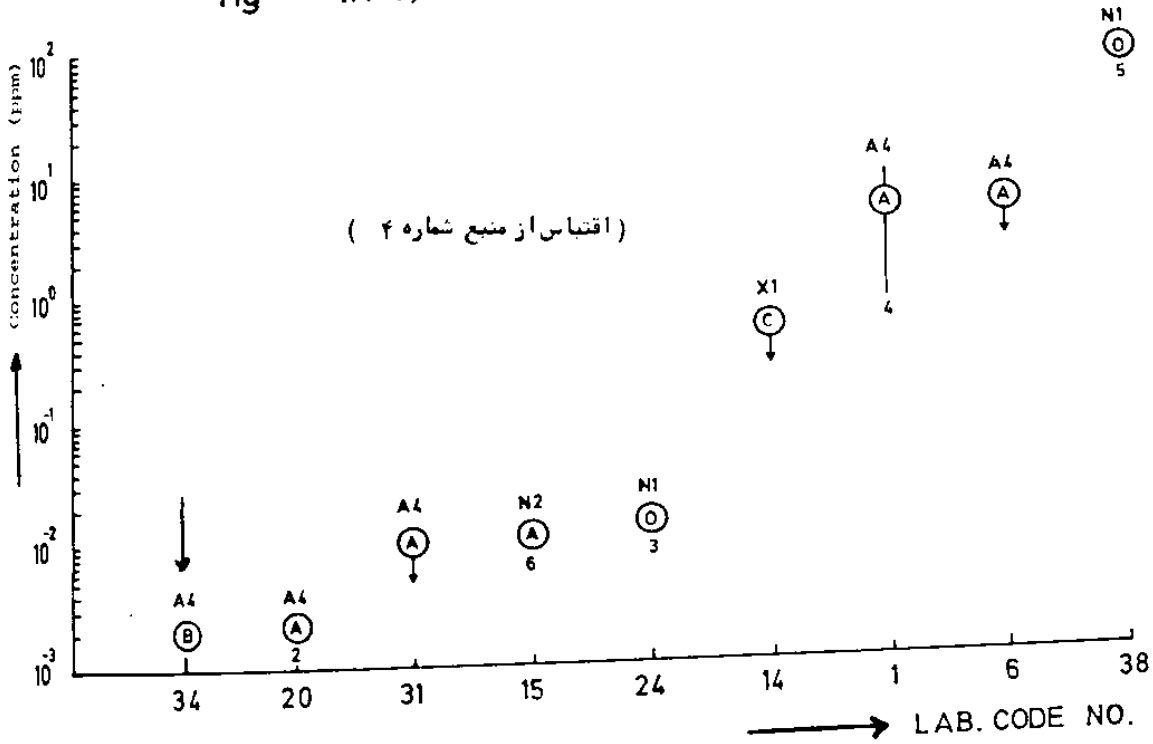
قدردانی

نویسنده از آقای دکتر مهدی سپهرابی به خاطر مرور پیش‌نویس این یادداشت و راهنمایی ارزشمندشان تشکر می‌نماید. همچنین از سرکار خانم رباب نیری که با دقت تمام اندازه‌گیری‌های مربوطه را انجام دادند، بدینوسیله تشکر و سپاسگزاری می‌شود.

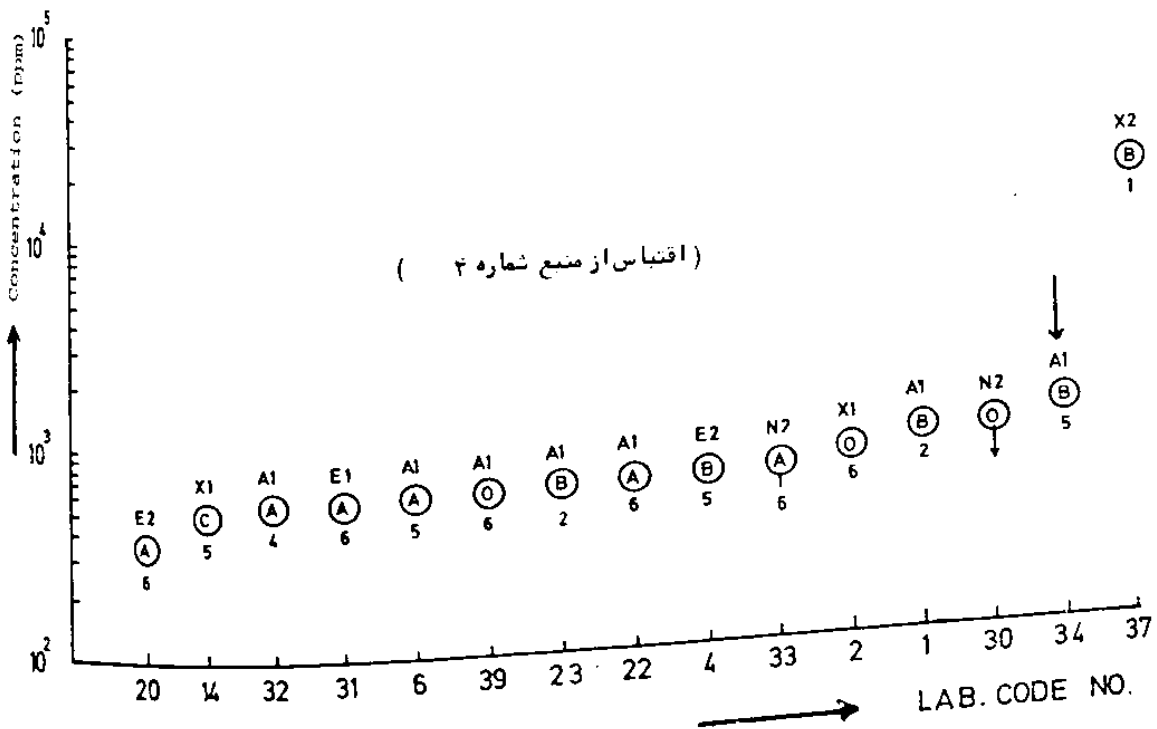
Cu IN H-5 ANIMAL BONE (PPM)



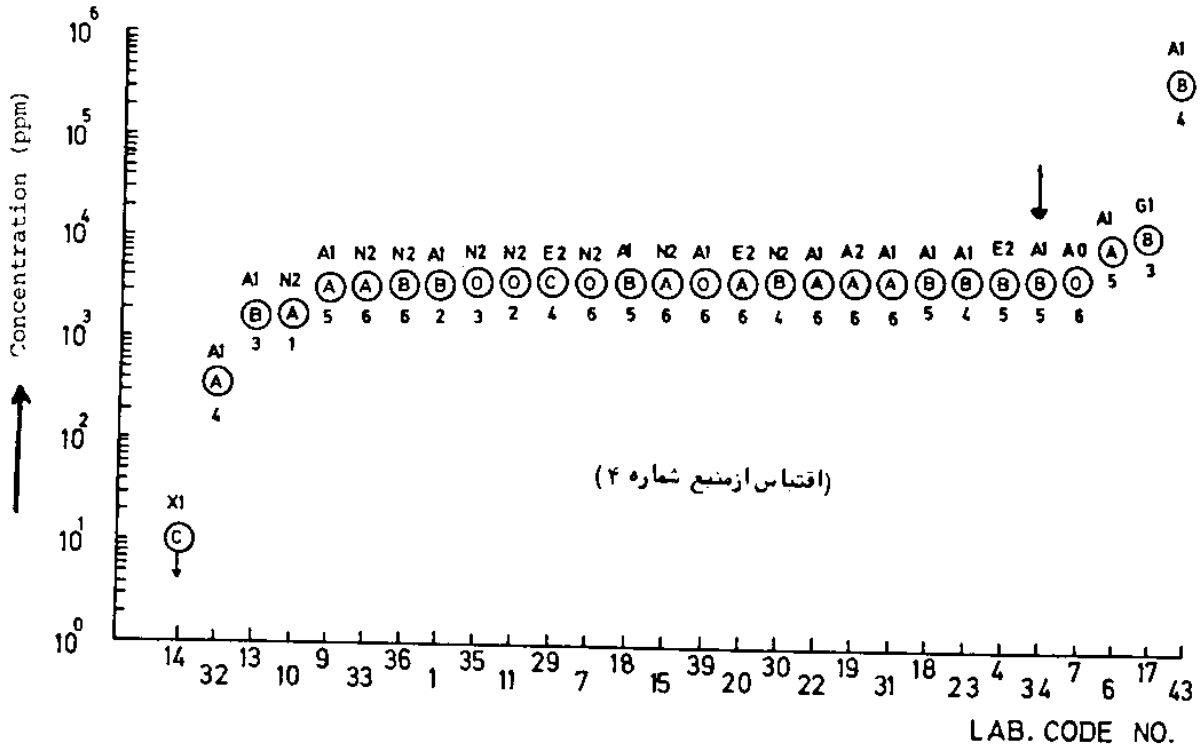
Hg IN H-5 ANIMAL BONE (PPM)



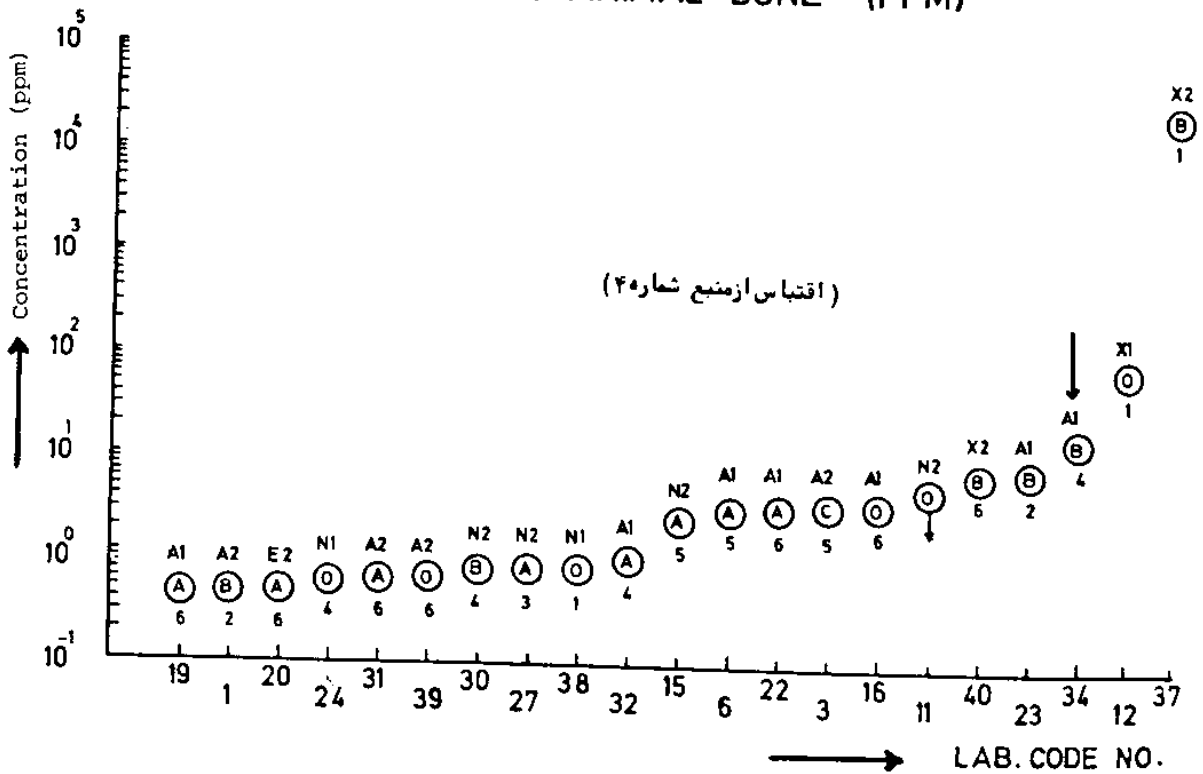
K IN H-5 ANIMAL BONE (PPM)



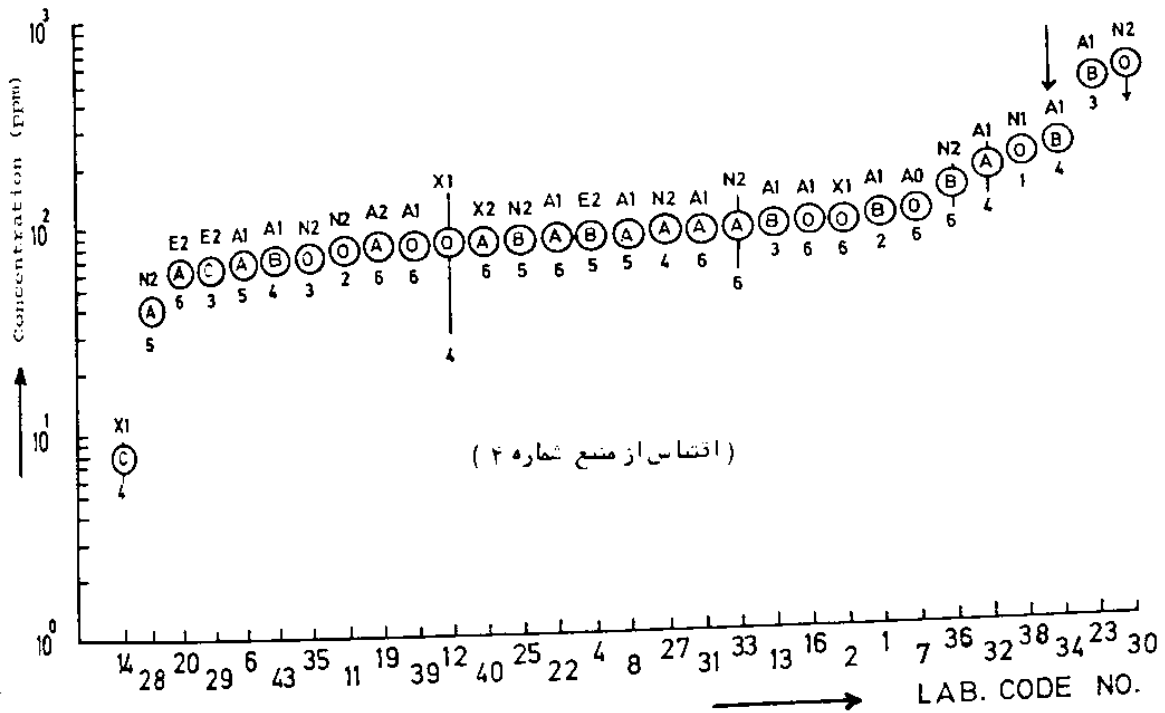
Mg IN H-5 ANIMAL BONE (PPM)



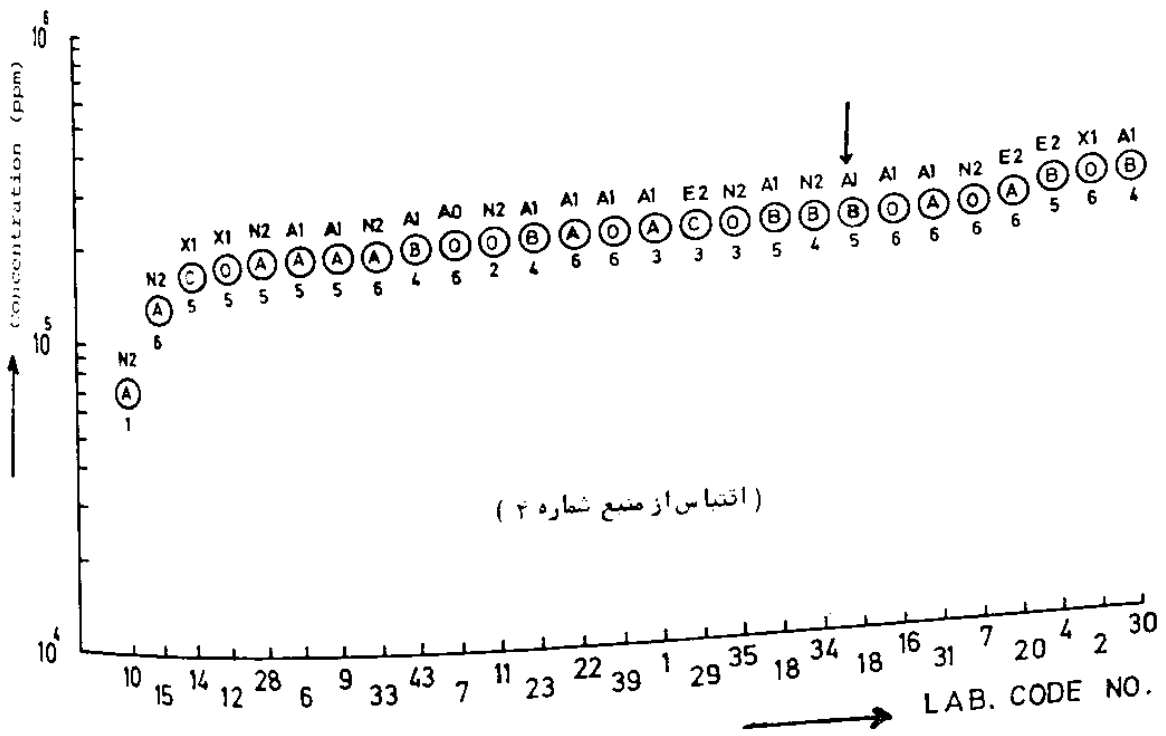
Mn IN H-5 ANIMAL BONE (PPM)



Fe IN H-5 ANIMAL BONE (PPM)



Ca IN H-5 ANIMAL BONE (PPM)



References

1. R. Dybczynski, A.Veglia and O.Suschny, Report on the Inter-comparison Run A-11 for the Determination of Inorganic constitution of Milk powder, IAEA/RL/68, 1980.
2. R.M. Parr, Paper presented at the first International Workshop on Trace Element Analytical chemistry in Medicine and Biology, Neuherberg, RTG, 26-20 April 1980.
3. IAEA information sheet, Intercomparison of Minor and Trace Elements in IAEA Animal Bone (H-5), 1981.
4. Progress Report, of Minor and Trace Elements in IAEA Animal Bone (H-5), Presented at Research Coordination Meeting for the Coordinated Research Programme on "Comparative Methods for the Study of Trace Elements in Human Nutrition. Delft, Netherlands, 25-27 Nov, 1981.

Analysis of Minor and trace Elements in IAEA Animal Bone(H-5)
by means of Nuclear Analytical Techniques.

A. Gharib.

Department of Chemistry,
Nuclear Research Centre,
A.E.O.I., Tehran, Iran.

Abstract

The accuracy and precision of Trace Elements analysis of standard materials can be determined by the cooperation of different laboratories by means of intercomparison of the results. A coordinated research programme based on above aim has been established by the International Atomic Energy Agency (IAEA). In this programme 43 countries have participated for the "Inter-comparison of Minor and Trace Elements in IAEA Animal Bone, H-5" supplied by the Agency.

The Chemistry Department of the Nuclear Research Centre of the Atomic Energy Organization of Iran(NRC) also has joined this programme and the results have shown good agreement with those of others as presented in a paper at the research coordination meeting for the coordinated research programme on the "Comparative Methods for the Study of Trace Elements in Human Nutrition" held in Delft, Netherlands 25-27 November 1981.