

## ارزیابی بیولوژیکی مواجهه کارگران با فلزات سمی نیکل و سرب با استفاده از روش فاز جامد با جاذب کرموزورب ۱۰۲

منیره خادم: دانشجوی دوره ی دکتری، گروه بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

سید جمال الدین شاه طاهری: استاد، گروه بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران - نویسنده رابط:

shahtaheri@sina.tums.ac.ir

فریده گلپایایی: استاد، گروه بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

عباس رحیمی فروشانی: دانشیار، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

محمد رضا گنجعلی: استاد، پردیس علوم، مرکز عالی الکتروشمی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

فرونوش فریدبند: استادیار، پردیس علوم، مرکز عالی الکتروشمی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۱۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۴/۳۱

### چکیده

زمینه و هدف: هدف از این مطالعه تغلیظ و تخلیص نمونه های ادرار، مو و ناخن با استفاده از روش استخراج فاز جامد توسط جاذب کرموزورب ۱۰۲ به منظور ارزیابی مواجهه ی کارگران یک صنعت فلزی با نیکل و سرب می باشد.

روش کار: در این مطالعه استخراج با استفاده فاز جامد توسط کرموزورب ۱۰۲ جهت آماده سازی، تغلیظ و تخلیص نمونه های بیولوژیک ادرار، مو و ناخن کارگران شاغل در صنایع فلزی استفاده گردید. متغیرهای مؤثر بر پاسخ روش بهینه سازی شدند. سپس دقت، صحت و تکرار پذیری روز به روز و در طول یک روز آن با استفاده از نمونه هایی با غلظت پایین، متوسط و بالای فلزات مورد نظر تأیید گردید. پس از استخراج سرب و نیکل از نمونه های واقعی کارگران، غلظت آنها توسط روش ولتامتری تعیین شد.

نتایج: به دنبال بهینه سازی روش، سرب و نیکل با راندمان بیشتر از ۹۴٪ از روی جاذب کرموزورب ۱۰۲ بازیافت شدند. اگرچه غلظت نیکل و سرب در نمونه های مو زیر حد تشخیص روش آنالیزی بود، در نمونه های ادرار و ناخن بالاتر از حدود مجاز مربوطه بودند.

نتیجه گیری: استخراج فاز جامد روشی سریع و ساده برای پیش تغلیظ و جداسازی آنالیت ها از نمونه های بیولوژیک بوده و با توجه به غلظت پایین آنالیت و وجود عوامل مداخله کننده ی موجود در این گونه نمونه ها، می تواند در آماده سازی آنها مؤثر واقع گردد. این مطالعه کاربرد روش مذکور در ارزیابی های شغلی و تعیین مواجهه ی کارگران را مورد تأیید قرار داد.

واژگان کلیدی: استخراج فاز جامد، آماده سازی نمونه، فلزات سنگین، ادرار، مو، ناخن

## مقدمه

آلودگی ناشی از فلزات سنگین به دلیل احتمال تجمع آنها در محیط زیست و در بدن موجودات زنده نگران کننده بوده و می تواند منجر به اثرات سمی بلند مدت گردد. در میان فلزات سنگین، نیکل و سرب از عناصر پر مصرف در بسیاری از صنایع مانند صنایع فلزی می باشند و امکان آلودگی ناشی از آنها در جوشکاری، ذوب فلزات و ریخته گری، آلیاژ سازی، تولید باتری و بسیاری از فرایندها وجود دارد. آلرژی پوستی و فیبروز ریوی از مهمترین عوارض مواجهه با نیکل می باشد. این عنصر می تواند باعث سرطان ریه گردد و توسط سازمان بین المللی تحقیقات روی سرطان (International Agency for Research on Cancer (IARC) به عنوان سرطان زای انسانی طبقه بندی شده و در گروه یک قرار می گیرد. سرب نیز یک عنصر رایج با کاربردهای مختلف می باشد که می تواند سبب نقص کلیوی، نقص عملکرد ماهیچه ای عصبی، کولیک، بی خوابی، کاهش وزن و اختلالات عصبی گردد (Horng et al. 2002; Gil et al. 2011; Winder and Stacey 2004; Shahtaheri et al. 2007b; Zhao et al. 2009). با توجه به کاربرد گسترده این فلزات و همچنین اثرات زیست محیطی و بویژه اثرات شغلی بر روی کارگران صنایع مربوطه، تعیین مقدار دقیق آنها در سطوح کم مقدار و در انواع مختلف نمونه ها مانند نمونه های محیطی و بیولوژیک از اهمیت بالایی برخوردار می باشد. اگرچه ادرار و خون نمونه های پذیرفته شده تری برای پایش بیولوژیک فلزات سنگین در مواجهات شغلی به شمار می روند، مو و ناخن نیز به عنوان واسطه هایی جهت دفع فلزات سنگین از بدن محسوب شده و غلظت آنالیت در آنها می تواند تا ده برابر سیالاتی چون ادرار و خون باشد (Gil et al. 2011). از جمله روش های استاندارد موجود برای تعیین مقدار فلزات سنگین در نمونه های ادرار می توان به روش NIOSH 8310 اشاره نمود. هضم نمونه های

ادرار بر اساس این روش بسیار زمان بر و نیازمند استفاده از ترکیبات زیان آور می باشد. همچنین جهت آنالیز فلزات در نمونه ها دستگاه نشر اتمی با پلاسما ی القایی جفت شده لازم بوده که دستگاهی گران قیمت با هزینه آنالیز بالا می باشد. غلظت پایین و گاهی بسیار پایین آنالیت ها در نمونه های بیولوژیک و محیطی، مشکلاتی را در تعیین مقدار آنها ایجاد می نماید. بنابراین روش های حساس و گزینش پذیر جهت تشخیص و تعیین مقدار آنالیت ها در سطوح کم مقدار در نمونه های مذکور ضروری به نظر می رسند (Shahtaheri et al. 2006; Shahtaheri et al. 2007a). مشکلات موجود در تعیین مقدار آنالیت ها در نمونه های پیچیده معمولا با استفاده از روش های پیش تغلیظ و جداسازی قابل حل می باشد. از جمله روش های موجود می توان استخراج با استفاده از فاز جامد و مبتنی بر جذب سطح (Solid Phase Extraction (SPE)، استخراج مایع مایع (Liquid-Liquid Extraction (LLE)، استخراج بر پایه ی شناورسازی (Liquid-Liquid Extraction (LLE)، استخراج بر پایه ی شناورسازی (LLE) و روش های دیگری را نام برد که به منظور پیش تغلیظ عناصر فلزی در سطوح کم مقدار استفاده شده اند (Khadem et al. 2010; Bouabdallah et al. 2006; Narin and Soylak 2003). برخی از روش ها به دلیل زمان بر بودن و یا تکرار پذیری نه چندان مناسب در راندمان استخراج، کمتر مورد استفاده قرار می گیرند و روش های حساس تر و تکرار پذیرتری مانند استخراج فاز جامد جایگزین آنها شده است. این روش در واقع جذب سطحی یک ترکیب شیمیایی روی یک جاذب جامد و سپس بازیافت ترکیب جذب سطحی شده از روی جاذب توسط یک حلال مناسب می باشد. در این راستا، جداسازی و تخلیص ترکیب مورد نظر در یک مدت کوتاه و توسط حجم کمی از حلال (مورد استفاده در مرحله ی شویش آنالیت از روی جاذب) امکان پذیر می گردد. بدین ترتیب فاکتور پیش تغلیظ بالایی نیز برای نمونه هایی با حجم های زیاد مهیا می گردد. جاذب های

بوجود نمی‌آورد. جمعیت مورد بررسی نیز با جمع‌آوری نمونه‌های مو و ناخن موافقت بیشتری داشته و تکرار ارزیابی‌ها در طول زمان کار افراد میسر می‌باشد. بر خلاف ادراک و خون که مواجهه‌ی اخیر را نشان می‌دهند، نمونه‌ای مانند مو می‌تواند منعکس‌کننده‌ی مواجهه‌ی زمان‌های گذشته بوده و اطلاعات تماس‌های بلند مدت را فراهم نماید. با وجود پیشرفت‌های فراوان در آنالیز نمونه‌ها، مطالعات کمتری به اندازه‌گیری آنالیت‌ها در نمونه‌های مو و ناخن پرداخته‌اند و در این زمینه تحقیقات بیشتر ضروری به نظر می‌رسد (Zhang et al. 2001; Lemos and De Carvalho 2010; Gil et al. 2011; Olmedo et al. 2010).

هدف از این مطالعه کاربرد جاذب کروموزورب ۱۰۲ در روش بهینه‌سازی شده‌ی استخراج با استفاده از فاز جامد جهت آماده‌سازی نمونه‌های مو، ناخن و ادراک جمع‌آوری شده از کارگران یک صنعت فلزی و به دنبال آن تعیین غلظت نیکل و سرب در این نمونه‌ها می‌باشد.

### روش کار

مواد شیمیایی: محلولهای مادر نیکل و سرب با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر با حل کردن مقدار مناسب از نمک آنها (شرکت مرک، آلمان) در اسید نیتریک ۰/۰۱ مولار آماده گردید. محلول‌های استاندارد کاری به طور روزانه با رقیق‌سازی محلول مادر تهیه شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در مطالعه نظیر اسیدها، استون، محلول‌های بافری، رزین کروموزورب ۱۰۲ از شرکت سیگمای آمریکا و عامل کمپلکس‌کننده‌ی آمونیوم پیرولیدین دی تیو کاربامات **Ammonium Pyrrolidine Dithiocarbamate (APDC)** نیز از شرکت مرک آلمان و خریداری شدند.

تجهیزات: تعیین مقدار نیکل و سرب با روش الکتروشیمیایی (ولتامتری) توسط دستگاه پلاروگراف **757 VA Computrace** ساخت شرکت **Metrohm** انجام گردید. میزان **pH** محلول‌ها بوسیله **pH** متر دیجیتال مدل

فراوانی مانند رزین **XAD**، سیلیکاژل و کربن فعال از نظر تجاری برای این منظور در دسترس بوده که راندمان کافی را فراهم می‌نمایند. همچنین ساخت جاذب اختصاصی برای ترکیب مورد نظر نیز در روش‌های پیشرفته‌تر مقدور می‌باشد. رزین‌های کروموزورب مواد پلیمری سنتزی هستند که به دلیل خواص فیزیکی و شیمیایی خوب مانند تخلخل، مساحت سطح بالا، دوام و خلوص به طور وسیع در جذب سطحی کاربرد دارند (Saracoglu et al. 2003; Narin and Soylak 2003; Takara et al. 2005).

استفاده از روش‌های آماده‌سازی مناسب که دارای حساسیت، دقت و صحت بالایی در استخراج فلزات سنگین از نمونه‌ها باشند در بهداشت حرفه‌ای و محیط بسیار مورد توجه قرار می‌گیرند. مواجهه‌ی پیوسته با سطوح کم مقدار منجر به تجمع زیستی و اثرات زیان‌آور بهداشتی می‌شود. همانگونه که مطالعات مختلف نشان داده‌اند پایش بیولوژیک یکی از بهترین راه‌های تعیین مواجهه با بسیاری از ترکیبات شیمیایی از جمله فلزات سنگین در محیط کار می‌باشد و می‌تواند به عنوان مکمل پایش هوا بکار گرفته شود. برای پایش بیولوژیک فلزات سنگین در سم‌شناسی شغلی معمولاً نمونه‌های ادراک و خون استفاده می‌شوند. از آنجایی که مقادیر مرجع مبتنی بر مطالعات سم‌شناختی توسط سازمان‌های بین‌المللی مرتبط ارائه شده‌اند، سطوح غلظت حاصل از پایش بیولوژیک می‌تواند به صورت فردی تفسیر گردد. پایش بیولوژیک همچنین از اهمیت بالایی در تعریف و تنظیم حدود مواجهه شغلی برای فلزات سنگین و سایر ترکیبات برخوردار می‌باشد. فلزات سنگین قابلیت تجمع در مو و ناخن افراد مواجهه را نیز دارند، بنابراین استفاده از این نمونه‌ها نیز مقدور می‌باشد. مو و ناخن می‌توانند انتخاب مناسبی برای بررسی‌های شغلی باشند. این واسطه‌ها نسبت به ادراک و خون پایدارتر بوده، جمع‌آوری و انتقال آنها ساده‌تر می‌باشد و بنابراین نگهداری آنها در فاصله‌ی بین نمونه برداری تا آنالیز تغییری در آنالیت

دانشگاه علوم پزشکی تهران در اختیار آنها قرار گرفت. سپس نمونه ها اخذ شده و اطلاعات فردی و همچنین شرایط کاری و مواجهه ی آنها یادداشت گردید. نمونه ها با شرایط مناسب به آزمایشگاه حمل شدند.

#### ۴- آماده سازی نمونه های بیولوژیکی

نمونه های مو و ناخن ابتدا وزن شده و پس از شستشوی اولیه توسط روش هضم اسیدی جهت دستیابی به محلول قابل اندازه گیری آماده شدند ( Were et al. 2008; Manzoori and Bavili 2002). نمونه های ادرار با حجم مشخص و بدون پیش آماده سازی خاصی در فرایند استخراج وارد شدند. به دلیل غلظت بسیار پایین فلزات در نمونه های بیولوژیکی و نیز وجود عوامل مداخله کننده ی فراوان در آنها، روش استخراج فاز جامد بهینه سازی شده به منظور تغلیظ و تخلیص نمونه های مذکور مورد استفاده قرار گرفت. مراحل استخراج با استفاده از فاز جامد شامل عبور نمونه ها با حجم مشخص از روی ستون حاوی جاذب، شستشوی ستون با محلول بافری و سپس شویس آنالیت ها از روی جاذب توسط اسید نیتریک (حلال شویس بهینه) بود. در نهایت غلظت نیکل و سرب در نمونه های بدست آمده در مرحله ی شویس تعیین گردید. لازم به ذکر است که قبل از عبور نمونه ها از روی جاذب، pH نمونه در مقدار بهینه تنظیم شده و عامل کمپلکس کننده با غلظت مشخص به آنها اضافه گردید.

### نتایج

#### ۱- اثر متغیرهای مختلف بر راندمان استخراج

به منظور مطالعه ی اثر متغیرهای مختلف بر راندمان جذب آنالیت ها و بازیافت آنها از روی جاذب، نمونه هایی با غلظت و حجم مشخص (۰/۴ پی پی ام و ۵۰ میلی لیتر) ساخته شد. محلول های بافری جهت تنظیم pH نمونه ها استفاده شدند و همچنین به منظور فراهم کردن گروه های عاملی برای جذب سطحی، عامل کمپلکس کننده (APDC) با غلظت مشخص به نمونه ها افزوده شد. در مرحله بعد، استخراج با استفاده از

Metrohm 744 اندازه گیری شده و جهت توزین مواد از ترازوی دیجیتالی Sartorius CP225D ساخت کشور آلمان استفاده شد.

#### ۱- آماده سازی ستون حاوی فاز جامد

ستون های کوچک شیشه ای (۱۰×۱۰۰ میلی متر) با ۵۰۰ میلی گرم رزین کروموزورب ۱۰۲ (مش ۱۰۰-۸۰) شرکت سیگمای آمریکا) پر شدند. جهت تثبیت رزین در ستون، دو طرف آن قطعه های پشم شیشه قرار گرفت. رزین قبل از قرار گرفتن در ستون به ترتیب توسط متانول، آب، اسید نیتریک ۱ مولار، آب، سود ۱ مولار و آب شسته شد. در نهایت و قبل از شروع آزمایشات، رزین توسط محلول بافر با pH مورد نظر آماده گردید.

#### ۲- بهینه سازی متغیرهای مؤثر در فرایند استخراج

در این مطالعه ابتدا متغیرهای تأثیر گذار بر جذب و بازیافت آنالیت مورد نظر در فرایند آماده سازی بهینه سازی شدند. متغیرهای pH نمونه، دبی عبور نمونه از روی جاذب، دبی شویس، حلال شویس، حجم حلال شویس، غلظت لیگاند (عامل کمپلکس کننده)، مقدار رزین و حجم نمونه در سطوح مختلف مورد آزمایش قرار گرفته و سطح بهینه برای هر متغیر انتخاب گردید. در طول فرایند آماده سازی، ابتدا نمونه هایی با غلظت مشخص از ستون حاوی جاذب عبور داده شدند. پس از آن شستشو با یک محلول بافری انجام شد و سپس در مرحله ی شویس، یون های فلزی جذب شده روی جاذب از ستون جدا گردید. در نهایت، غلظت فلز در محلول بدست آمده از مرحله ی شویس تعیین گردید.

#### ۳- جمع آوری نمونه های بیولوژیکی

تعداد ۱۵ نفر از کارگران صنایع فلزی در یکی از استان های کشور به طور تصادفی انتخاب شده و نمونه های مو و ناخن و ادرار آنها جمع آوری گردید. جهت آگاهی کارگران و حضور داوطلبانه ی آنها در پژوهش، فرم رضایت نامه تهیه شده توسط کمیته اخلاق در پژوهش معاونت پژوهشی

شش بار برای روش مورد بررسی قرار گرفت که نتایج مربوطه در جدول ۳ مشاهده می شود.

### ۳- نتایج مربوط به نمونه های واقعی

پس از بهینه سازی و معتبر سازی، روش استخراج فاز جامد برای تغلیظ و تخلیص نمونه های ادرار، مو و ناخن جمع آوری شده از صنعت، مورد استفاده قرار گرفت. نمونه های آماده شده از روی ستون های حاوی کروموزورب ۱۰۲ عبور داده شدند و پس از شویش توسط اسید نیتریک ۲ مولار، نیکل و سرب موجود در آنها با روش الکتروشیمیایی مورد نظر تعیین مقدار گردید (جدول ۴).

## بحث

نتایج نشان می دهد که برای یون های سرب و نیکل (II) در pH نمونه برابر با ۹ بالاترین راندمان بازیافت بدست آمد. در این pH، آنالیتها به مقدار بیشتری در حالت یونیزه قرار داشته و می توانند به آسانی با گروه های عاملی لیگاند در سطح جاذب پیوند برقرار نمایند. بر این اساس، pH نمونه برابر با ۹ به عنوان سطح بهینه و قابل اطمینان برای ادامه آزمایشات انتخاب گردید. Soy lak و همکاران نیز در مطالعه ای برای استخراج فاز جامد فلزات مس، سرب و نیکل، رنج ۸-۹ را به عنوان pH بهینه معرفی نمودند. Soy lak et al. (2003b). جاذب مورد استفاده در این مطالعه از نوع غیر قطبی بوده و از این رو بین آن و آنالیت های یونیزه تمایلی وجود نداشت، بنابراین جهت برقراری پیوند بین آنالیتها و جاذب از یک واسطه (لیگاند) استفاده گردید که گروه های عاملی موجود در آن زمینه ی برقراری پیوند بین جاذب و یون های سرب و نیکل و در نتیجه انجام یک استخراج کارآمد را برقرار نمود. لیگاند مورد استفاده، آمونیوم پیرولیدین دی تیوکاربامات (APDC)، به دلیل وجود گروه عاملی سولفور در آن یک لیگاند نرم به شمار می آید. از طرفی سرب و نیکل در گروه کاتیون های مرزی (Borderline cations) قرار می گیرند و به برقراری پیوند با گروه سولفور تمایل دارند، بنابراین لیگاند

فاز جامد برای هر نمونه انجام شده و غلظت فلزات استخراج شده تعیین گردید. در ادامه با توجه به مشخص بودن غلظت اولیه محلول، راندمان بازیافت محاسبه شد. جداول ۱ و ۲ اثر فاکتورهای مختلف بر راندمان جذب و بازیافت را نشان می دهند. پس از انجام آزمایشات برای متغیرها، برای آنها مقادیر بهینه بدین ترتیب انتخاب گردید: pH برابر با ۹، غلظت لیگاند ۰/۰۵٪، اسید نیتریک ۲ مولار به عنوان حلال شویش، حجم ۱۵ میلی لیتر برای حلال شویش، دبی عبور نمونه و حلال شویش ۵ میلی لیتر در دقیقه، وزن جاذب ۵۰۰ میلی گرم، حجم نمونه تا ۵۰۰ میلی لیتر. با توجه به مقدار بهینه ی بدست آمده برای حجم نمونه و حجم حلال شویش فاکتور تغلیظ برابر با ۳۳/۳۳ محاسبه گردید. بنابراین روش بهینه شده می تواند آنالیت موجود در نمونه ها را تا ۳۳/۳۳ برابر تغلیظ نماید. علاوه بر این، اثر عوامل مداخله کننده (اثر ماتریکس) بر راندمان نیز مورد بررسی قرار گرفت. نمک مربوط به یون های مختلفی مانند  $SO_4^{2-}$  و  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  در غلظت های مشخص به نمونه ها اضافه گردید، سپس مراحل استخراج انجام شده و غلظت نیکل و سرب تعیین گردید. سدیم تا حدود ۲۵ g/l و سایر یونها تا حدود ۱ g/l در جذب نیکل و سرب روی جاذب تداخل ایجاد نمی کردند، اما با افزایش غلظت یون ها، راندمان رو به کاهش گذاشت.

### ۲- تکرار پذیری

برای تعیین تکرار پذیری و معتبر سازی روش بهینه شده از نمونه های ادرار افراد غیر مواجه استفاده گردید. عوامل مداخله کننده در ادرار فراوان بوده و می تواند مشابه بسیاری از نمونه های واقعی در نظر گرفته شود. نیکل و سرب با سه غلظت مشخص ۱، ۱/۵ و ۲ میکروگرم در میلی لیتر به نمونه های ادرار اضافه شد (Spike). هر روز و به مدت شش روز، منحنی های استاندارد خطی مربوط به غلظت های استخراج شده با ضریب همبستگی ۰/۹۹۵ یا بزرگتر بدست آمدند. تکرار پذیری روز به روز و در طول روز به تعداد

به کاهش زمان کلی فرایند نیز منجر گردد. در این راستا انتخاب سطح مناسب دبی عبور حلال شویس از روی جاذب نیز مؤثر خواهد بود. در دبی خیلی پایین زمان فرایند استخراج طولانی شده و در دبی خیلی بالا نیز به دلیل عبور سریع حلال از روی جاذب، فرصت کافی برای بازیافت فراهم نمی شود. در بین چندین دبی مورد آزمایش اگرچه سطوح ۲ تا ۷ میلی لیتر در دقیقه راندمان بازیافت بالایی را مقدور می کردند و تفاوت معنی داری نشان ندادند، به دلیل افزودن بر سرعت فرایند و کاهش زمان کلی آزمایشات، دبی ۵ میلی لیتر در دقیقه به عنوان سطح مناسب و مطمئن انتخاب گردید (جدول ۲). نتیجه مذکور با نتایج مطالعه Soy lak و همکاران همخوانی داشت (Soy lak et al. 2003b). جهت تعیین تأثیر حجم نمونه بر راندمان استخراج، حجم های ۵۰ تا ۷۵۰ میلی لیتر مورد بررسی قرار گرفت. از آنجایی که در آزمایشات بهینه سازی مقدار ثابتی از آنالیت به نمونه ها اضافه می شد، با افزایش حجم نمونه غلظت محلول کاهش می یافت. تا حجم ۵۰۰ میلی لیتر (غلظت ۰/۰۴ میکرو گرم بر میلی لیتر) راندمان بالایی بدست آمده و این حجم به عنوان سطح بهینه انتخاب شد. در مطالعه Tuzen و همکاران، حجم ۴۰۰ میلی لیتر به عنوان حجم بهینه معرفی گردید (Tuzen et al. 2005). بدین ترتیب فاکتور تغلیظ ۳۳/۳۳ از تقسیم حجم نمونه به حجم حلال شویس محاسبه گردید. به دلیل سطوح بسیار پایین آنالیت ها در نمونه های بیولوژیک که ممکن است زیر حد تشخیص بسیاری از دستگاه های آنالیز باشند، این فاکتور تغلیظ می تواند غلظت آنالیت ها را به مقدار قابل تشخیص برای این تجهیزات برساند. Soy lak و همکاران در مطالعه بر روی آماده سازی نمونه های حاوی فلزات سنگین، فاکتور تغلیظ حدود ۱۰۰ را بدست آوردند. دلیل فاکتور تغلیظ بالا در مطالعه مذکور استفاده از تجهیزات مناسب برای عبور نمونه ها از روی جاذب به جای عبور دستی نمونه ها و همچنین کمتر بودن حجم حلال شویس می باشد (Soy lak et al. 2003a). یکی دیگر از فاکتورهای مورد مطالعه دبی عبور

انتخابی در این مطالعه در افزایش راندمان جذب مؤثر واقع گردید. در بین غلظت های مختلف لیگاند اضافه شده به نمونه ها، غلظت بین ۰/۰۵ تا ۰/۰۷٪ راندمان جذب بالایی را فراهم نمود. به دلیل پیشگیری از اشباع سطح جاذب با لیگاند و همچنین کاهش مصرف مواد در فرایند استخراج، غلظت ۰/۰۵٪ به عنوان سطح بهینه در طول استخراج انتخاب گردید.

آگاهی از شیمی ترکیبات مورد آنالیز مانند قابلیت یونیزاسیون و آب گریزی آنها می تواند در انتخاب شرایط مناسب برای استخراج با راندمان بالا مفید واقع گردد. شویس ترکیباتی که به مقدار زیادی یونی هستند سخت تر بوده و این عامل می تواند بازیافت ضعیف آنها از سطح جاذب را سبب شود. بنابراین انتخاب حلال شویس مناسب از اهمیت بالایی برخوردار می باشد. در بین حلال های آزمایش شده در این مطالعه، اگر چه اکثر آنها راندمان بازیافت مناسبی را فراهم کردند (جدول ۱)، بالاترین راندمان بازیافت برای یون های مورد نظر هنگام استفاده از  $2M HNO_3$  بدست آمد و به عنوان حلال بهینه برگزیده شد. اسید نیتریک ۲ مولار همچنین یک حلال غیر آلی بوده، خطر مواجهه با بخارات حلال های آلی را حذف می نماید و از شویس احتمالی ترکیبات آلی موجود در نمونه های واقعی نیز پیشگیری می گردد. در بین حجم های شویس آزمایش شده، پایین ترین حجم از حلال شویس که راندمان بازیافت بالا (۹۷٪) را مقدور می نماید، حجم ۱۵ میلی لیتر است. هر چه قدرت شویس حلال بالاتر باشد حجم کمتری از آن قادر است به طور کارآمد آنالیت ها را شویس نماید. شایان ذکر است که مقدار جاذب موجود در ستون نیز در این زمینه مؤثر بوده و افزایش آن باعث افزایش حجم حلال مورد نیاز خواهد شد. حجم حلال کمتر در زمان شویس، فاکتور تغلیظ بالاتری در فرایند استخراج را مهیا خواهد نمود. در این مطالعه با توجه به حجم ۱۵ میلی لیتر، فاکتور تغلیظ ۳۳/۳۳ حاصل شد. علاوه بر این، حجم کمتر می تواند

نیامده و راندمان های بالای ۹۲٪ در حضور این یون ها بدست آمد. بنابراین روش می تواند برای آماده سازی نمونه هایی با محتوای نمک بالا مانند آب های معدنی و واسطه های بیولوژیکی بکار گرفته شود.

پس از بهینه سازی متغیرهای تأثیرگذار بر راندمان استخراج با استفاده از فاز جامد و انتخاب سطح بهینه برای هر متغیر، ارزیابی قابلیت اطمینان و تکرار پذیری روش از اهمیت بالایی برخوردار می باشد. در این رابطه، آزمایشات لازم به صورت روز به روز و در طول روز به مدت شش روز انجام شدند (جدول ۳). در بررسی تکرار پذیری روز به روز، به مدت شش روز منحنی های استاندارد خطی مربوط به غلظت های استخراج شده رسم شده و ضریب همبستگی ۰/۹۹۵ یا بزرگتر را نشان دادند. جهت ارزیابی آزمایشات در طول روز، شش آزمایش در طول هر روز و به مدت سه روز متوالی انجام شد. نتایج مربوط به کل آزمایشات قابلیت اطمینان و تکرار پذیری روش استخراج را تصدیق نمودند. همچنین ضرایب تغییر (CV%) بدست آمده همگی زیر ۲٪ بوده و نشان دهنده ی صحت و دقت مناسب روش می باشد.

محققین همواره به دنبال مرتفع کردن مشکلات موجود در روش های آماده سازی و آنالیزی موجود بوده و تدوین روش های ساده و کم هزینه با قابلیت اطمینان بالا را در اولویت قرار می دهند. در این راستا، استخراج فاز جامد به عنوان روشی مناسب جهت تغلیظ و تخلیص آنالیت ها از انواع نمونه ها بویژه نمونه های بیولوژیک مورد توجه قرار گرفته است. مقذور ساختن راندمان استخراج بالا مستلزم تنظیم صحیح متغیرهای تأثیرگذار بر جذب و بازیافت آنالیت و نیز انتخاب جاذب متناسب با آنالیت و کل نمونه می باشد. تعداد متغیرهای بهینه سازی شده در اکثر مطالعات موجود (Narina et al. 2001; Soylak et al. 2003a; Hennion 1999)، معمولا ۵ تا ۶ متغیر است در حالیکه مطالعه ی حاضر به ۹ متغیر پرداخته و آنها را بهینه سازی نموده است. همچنین در اغلب مطالعات موجود جهت تعیین قابلیت

نمونه از روی جاذب بود. با توجه به حجم نمونه بالا، بدیهی است که هرچه دبی عبور نمونه بالاتر باشد بر سرعت فرایند افزوده خواهد شد. در بین سطوح مورد آزمایش اگر چه دبی ۹ میلی لیتر در دقیقه نیز راندمان قابل قبولی را فراهم نمود اما جهت اطمینان از کارایی استخراج در حجم های نمونه ی پایین، دبی ۵ میلی لیتر در دقیقه به عنوان سطح بهینه انتخاب گردید. در صورت کاربرد حجم های نمونه ی بالاتر، دبی ۹ میلی لیتر در دقیقه نیز جهت سرعت بخشیدن به فرایند و کوتاه کردن زمان استخراج قابل استفاده خواهد بود.

وزن جاذب به عنوان فاکتوری تأثیر گذار بر جذب آنالیت ها در نظر گرفته می شود. نتایج جدول ۲ نشان می دهند که در بین دو وزن جاذب مورد آزمایش، وزن ۱۰۰ میلی گرم راندمان جذب مناسبی را مقدور نکرده و مقدار ۵۰۰ میلی گرم به عنوان بهینه انتخاب شد. مقدار مناسب جاذب فرصت طولانی تری را برای انجام واکنش ها مهیا نموده و یون های نیکل و سرب با راندمان مناسب در سطح جاذب پیوند بر قرار می کنند. قبلا نیز اشاره شد که با افزایش جرم جاذب، حجم بیشتری از حلال شویس جهت بازیافت کارآمد مورد نیاز خواهد بود. جاذب مورد استفاده در این مطالعه کرموزورب ۱۰۲ با مش ۸۰-۱۰۰ بود که قدرت و ظرفیت بالایی در جذب آنالیت ها دارد. رزین هایی با ذرات ریزتر ممکن است ظرفیت جذب بالاتری داشته و مقدار کمتری از آنها مورد نیاز باشد اما باعث ایجاد افت در دبی عبور نمونه و حلال شویس شده و در نتیجه زمان پیش تغلیظ و جداسازی افزایش می یابد.

نمونه های بیولوژیکی سرشار از عوامل مزاحم هستند که ممکن است بر راندمان استخراج آنالیت اثر مداخله کننده ایجاد نمایند. بنابراین اثر ماتریکس بر راندمان استخراج مطالعه گردید و طبق نتایج با افزودن مقادیر تقریبا بالایی از برخی یون ها که امکان حضور آنها در نمونه های واقعی نیز وجود دارد، مداخله ای در فرایند جذب و بازیافت بوجود

استفاده شد (Kargar et al. 2013). مطالعات بسیار کمی در مورد اندازه گیری فلزات در نمونه های مو و ناخن وجود دارد که در اغلب آنها از روش های آماده سازی مانند استخراج فاز جامد استفاده نشده است (Lemos. And De Carvalho 2010; Shan and Ikram 2012). در این مطالعات غلظت های پایین معمولاً توسط دستگاه های آنالیز پیشرفته تعیین شده اند. Mehra و همکاران میزان کادمیوم و سرب را در نمونه های مو و ناخن اندازه گیری نمودند و جهت آنالیز نمونه ها از دستگاه جذب اتمی با کوره گرافیتی استفاده نمودند (Mehra and Junija 2004). Soylak و همکاران از روش استخراج فاز جامد برای پیش تغلیظ و جداسازی مس، نیکل و سرب از نمونه های ادرار استفاده کردند و راندمان بالایی را در این مورد بدست آوردند (Soylak et al. 2003). سازمان بهداشت جهانی (WHO) حداکثر مقدار قابل قبول سرب در نمونه های مو و ناخن را ۰/۲ میکروگرم بر گرم اعلام نموده است (Shan and Ikram 2012). برای فلز نیکل در نمونه های مو و ناخن استاندارد مطروح نشده است. سطح استاندارد ارائه شده برای نیکل و سرب در ادرار به ترتیب ۲/۲ و ۱۵۰ میکروگرم در لیتر می باشد (Office 1997; Jakubowski and Trzcinka-Ochocka 2005; Kraus et al. 2001). نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که کارگران با مقادیر بالاتر از حد مجاز نیکل و سرب در معرض می باشند.

### نتیجه گیری

استخراج فاز جامد عنوان روشی مناسب جهت خالص سازی و تغلیظ انواع نمونه ها در نظر گرفته شده و به دلیل مزایای زیاد نسبت به روش هایی چون استخراج مایع جایگزین مناسبی برای آنها می باشد. رنج وسیعی از انواع جاذب ها برای کاربرد در این روش در دسترس هستند که بر اساس فاکتورهایی چون موجود بودن آنها در آزمایشگاه و قیمت می توان انتخاب نمود. همچنین سادگی و قابلیت

اطمینان روش، آزمایشات مربوط به صحت و دقت انجام شده و به تکرارپذیری روش به شکل روز به روز و در طول روز اشاره نشده است. در این مطالعه بررسی تکرار پذیری روش با نمونه های بیولوژیکی انجام شده و بنابراین روش با قابلیت اعتماد بالا می تواند جهت تعیین مقدار فلزات مورد نظر در چنین نمونه هایی مورد استفاده قرار گیرد. فاکتور تغلیظ بالا نیز امکان استفاده از دستگاه های آنالیز با حساسیت کمتر را مقدور نموده و بنابراین روش در اکثر آزمایشگاه های معمول قابل کاربرد خواهد بود.

به منظور تصدیق عملکرد روش بهینه شده در شرایط غیر آزمایشگاهی، از آن جهت آماده سازی، تغلیظ و تخلیص نمونه های واقعی جمع آوری شده از صنعت استفاده گردید. جدول ۴ نتایج مربوط به اندازه گیری سرب و نیکل در نمونه های ادرار، مو و ناخن را نشان میدهد. با توجه به غلظت بسیار پایین آنالیت ها در نمونه هایی مانند مو و ناخن که زیر حد تشخیص دستگاه های آنالیز معمول می باشد و همچنین وجود ترکیبات مداخله کننده ی فراوان در چنین نمونه هایی، استخراج فاز جامد گزینه ای مناسب و کارآمد محسوب می گردد. فاکتور تغلیظ ۳۳/۳۳ منجر شد که غلظت فلزات مورد نظر در نمونه ها به قابلیت تشخیص دستگاه آنالیز رسیده و تعیین مقدار به راحتی صورت پذیرد. به دلیل غلظت بسیار پایین فلزات در مو، با وجود تغلیظ نمونه در این مطالعه غلظت فلزات در مو قابل تشخیص نبوده است. در مواردی که در ماتریس هایی چون مو و ناخن غلظت فلزات قابل تشخیص باشد می توان به این نتیجه رسید که فرد به صورت بلند مدت با فلز مورد نظر مواجهه داشته است. نمونه ای مانند مو می تواند منعکس کننده ی مواجهه ی زمان های گذشته بوده و اطلاعات تماس های بلند مدت را فراهم نماید. در مطالعه کارگر و همکاران (۲۰۱۳) از روش استخراج فاز جامد بهینه شده جهت پیش تغلیظ نمونه های ادرار کارگران یک صنعت سرامیک سازی و برای تعیین مواجهه ی آنها با کبالت



استخراج فاز جامد در پایش های شغلی و محیطی و تعیین مقدار آنالیت‌ها در نمونه‌های مختلف از جمله نمونه‌های بیولوژیکی بسیار مورد توجه قرار گرفته و از آن به عنوان یک روش ساده و پرکاربرد در این زمینه یاد می‌گردد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره قرارداد ۱۳۲/۷۳۷۲ می‌باشد. بدین وسیله از حمایت های اجرایی و مالی دانشگاه تشکر می‌گردد. همچنین نویسندگان از همکاری مدیران صنایع فلزی زنجان به منظور جمع آوری نمونه های واقعی از کارکنان آن صنایع سپاسگزاری می‌نمایند.

اطمینان و تکرار پذیری بالا از ویژگی های روش نامبرده به شمار می‌آید. قابلیت کاربرد در آزمایشگاه های معمول، عدم نیاز به تیم آزمایشگاهی با تخصص‌های خاص، عدم استفاده از حلال‌های آلی در مقادیر زیاد و حذف عوامل مداخله کننده موجود در نمونه‌ها از دیگر مزایای آن می‌باشد. فاکتور تغلیظ بالا نیز امکان استفاده از دستگاه‌های آنالیز با حساسیت کمتر را مقدور می‌نماید. نتایج این مطالعه نشان داد که در صورت انتخاب صحیح پارامترهای تاثیر گذار بر راندمان استخراج با استفاده فاز جامد، این روش می‌تواند جهت تعیین مقدار ترکیبات در نمونه‌های مختلف بکار گرفته شده و نیاز به استفاده از روش‌های آماده سازی کنونی که زمان بر و مستلزم استفاده از ترکیبات زیان- آور است را کاهش دهد. در سال‌های اخیر استفاده از روش

جدول ۱- اثر pH نمونه، غلظت لیگاند، نوع و حجم حلال شویش بر بازیافت یون های نیکل و سرب از روی جاذب کرموزورب ۱۰۲ (حلال شویش: 2M HNO<sub>3</sub>)

SD ± میانگین (%)	SD ± میانگین (%)	حجم حلال شویش (ml)	SD ± میانگین (%)		نوع حلال شویش	SD ± میانگین (%)		غلظت لیگاند (%)	SD ± میانگین (%)		pH
			سرب	نیکل		سرب	نیکل		سرب	نیکل	
۴۷±۲/۲۳	۴۸±۱/۱۱	۵	۹۰±۰/۰۰	۹۲±۴/۴۷	1M HCL	۴۸±۴/۴۷	۴۶±۵/۴۷	۰/۰۱	۱۰±۰/۰۰	۶±۲/۲۳	۲
۶۳±۲/۷۳	۶۲±۲/۷۳	۱۰	۱۰±۰/۰۰	۱۴±۵/۴۷	Acetone	۷۰±۰/۰۰	۶۲±۴/۴۷	۰/۰۳	۲۰±۰/۰۰	۱۰±۰/۰۰	۴
۹۷±۴/۲۱	۹۷±۴/۲۱	۱۵	۹۶±۵/۴۷	۸۸±۴/۴۷	(HNO <sub>3</sub> in Acetone)	۹۸±۸/۳۶	۹۶±۵/۴۷	۰/۰۵	۸۶±۵/۴۷	۳۲±۴/۴۷	۷
۹۸±۴/۴۷	۹۸±۴/۴۷	۲۰	۹۶±۵/۴۷	۹۴±۵/۴۷	1M HNO <sub>3</sub>	۱۰۰±۰/۰۰	۹۴±۵/۴۷	۰/۰۷	۹۶±۵/۴۷	۹۶±۴/۴۷	۹
			۹۸±۴/۴۷	۹۶±۵/۴۷	2M HNO <sub>3</sub>						

جدول ۲- اثر دبی حلال شویش، حجم نمونه، دبی عبور نمونه و مقدار جاذب بر بازیافت یون های نیکل و سرب از روی جاذب کروموزورب ۱۰۲ (حلال شویش: 2M HNO<sub>3</sub>)

دبی حلال شویش (ml/min)	SD ± میانگین (%)		حجم نمونه (ml)	SD ± میانگین (%)		دبی نمونه (ml/min)	SD ± میانگین (%)	
	سرب	نیکل		سرب	نیکل		سرب	نیکل
۲	۹۸±۴/۴۷	۹۶±۵/۴۵	۵۰	۱۰۰±۰/۰۰	۹۸±۵/۴۷	۲	۹۸±۴/۴۷	۹۶±۵/۴۵
۵	۹۸±۴/۴۷	۹۶±۵/۴۷	۱۵۰	۹۸±۴/۷۴	۹۶±۵/۴۷	۵	۹۸±۴/۴۷	۹۶±۵/۴۷
۷	۹۶±۵/۴۷	۹۴±۵/۴۷	۲۵۰	۹۶±۵/۴۷	۹۴±۵/۴۷	۷	۹۶±۵/۴۷	۹۴±۵/۴۷
۹	۹۲±۴/۴۷	۹۲±۴/۴۷	۵۰۰	۹۶±۵/۴۷	۹۴±۵/۴۷	۹	۹۲±۴/۴۷	۹۲±۴/۴۷
			۷۵۰	۸۰±۰/۰۰	۷۸±۴/۴۷			

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

غلظت اضافه شده (µg/ml)						داده های آماری
۲		۱/۵		۱		
W-day	D-day	W-day	D-day	W-day	D-day	
۱/۹۳	۱/۹۳	۱/۴۴۴	۱/۴۴	۰/۹۷۳	۰/۹۷۶	میانگین
۱/۳۷	۰/۸۱۶	۱/۰۳۳	۱/۰۳۲	۱/۰۳۳	۱/۰۷	انحراف استاندارد (SD)
۱/۴۳	۰/۸۴	۱/۰۷	۰/۸۱۶	۱/۰۶	۰/۸۴	ضریب تغییرات (CV%)
۱/۹۴۶	۱/۹۵	۱/۴۴۹	۱/۴۶۷	۰/۹۸	۰/۹۸۳	میانگین
۱/۲۱۱	۱/۲۲۵	۱/۵۰۵	۱/۳۲۹	۱/۲۶۵	۱/۵۰۵	انحراف استاندارد (SD)
۱/۲۴	۱/۲۶	۱/۵۵	۱/۳۵	۱/۴۳	۱/۲۲	ضریب تغییرات (CV%)

D-day: Day to Day Reproducibility

W-day: Within Day Reproducibility

جدول ۴- غلظت نیکل و سرب در نمونه های ادرار، مو و ناخن در کارگران صنعت فلزی

غلظت در ادرار (µg/l)	غلظت در مو (µg/g)	غلظت در ناخن (µg/g)	
SD ± میانگین	SD ± میانگین	SD ± میانگین	
۵۷±۱۹	N.D	۵/۳۱±۳/۰۱	نیکل
۶۶۱±۱۲۳	N.D	۳/۲۹±۱/۱۱	سرب

N.D: Not Detected

## References

- Bouabdallah, I., Zidane, I., Hacht, B., Touzani, R. and Ramdani, A., 2006. Liquid-liquid extraction of copper (II), cadmium (II) and lead (II) using tripodal N-donor pyrazole ligands. *ARKIVOC*, 6, pp. 59-65.
- Gil, F., Hernandez, A.F., Maquez, C., Femia, P., Olmedo, P., Lopez-Guarnido, O. and Pla, A., 2011. Biomonitorization of cadmium, chromium, manganese, nickel and lead in whole blood, urine, axillary hair and saliva in an occupationally exposed population. *Science of the Total Environment*, 409, pp. 1172-1180.
- Hennion, M.C., 1999. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 856, pp. 3-54.
- Hornig, C.J., Tsai, J.L., Hornig, P.H., Lin, S.C., Lin, S.R. and Tzeng, C.C., 2002. Determination of urinary lead, cadmium and nickel in steel production workers. *Talanta*, 56, pp. 1109-1115.
- Jakubowski, M. and Trzcinka-Ochocka, M., 2005. Biological Monitoring of Exposure: Trends and Key Developments. *Journal of Occupational Health*, 47, pp. 22-48.
- Kargar, F., Shahtaheri, S.J., Golbabaie, F., Barkhordari, A., Rahimi-Froushani, A. and Khadem, M., 2013. Evaluation of Occupational Exposure of Glazers of a Ceramic Industry to Cobalt Blue Dye. *Iranian J Publ Health*, 42, pp. 868-875.
- Khadem, M., Golbabaie, F., Rahimi Froushani, A. and Shahtaheri, S.J., 2010. Optimization of Solid Phase Extraction for Trace Determination of Cobalt (II) Using Chromosorb 102 in Biological Monitoring. *International Journal of Occupational Hygiene (IJOH)* 2, pp. 10-16.
- Kraus, T., Schramel, P., Schaller, K.H., Zöbelein, P., Weber, A. and Angerer, J., 2001. Exposure assessment in the hard metal manufacturing industry with special regard to tungsten and its compounds. *Occup Environ Med*, 58, pp. 631-634.
- Lemos, V.A. and De Carvalho, A.L., 2010. Determination of cadmium and lead in human biological samples by spectrometric techniques: a review. *Environ Monit Assess*, 171, pp. 255-265.
- Manzoori, J.L. and Bavili-Tabrizi, A., 2002. Cloud point preconcentration and flame atomic absorption spectrometric determination of Cd and Pb in human hair. *Analytica Chimica Acta*, 470, pp. 215-221.
- Mehra, R. and Junija, M., 2004. Biological Monitoring of Lead and Cadmium in Human Hair and Nail and their Correlations with Biopsy Materials, Age and Exposure. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 41, pp. 53-56.
- Narin, I. and Soylak, M., 2003. Enrichment and determinations of nickel (II), cadmium (II), copper (II), cobalt (II) and lead (II) ions in natural waters, table salts, tea and urine samples as pyrrolydine dithiocarbamate chelates by membrane filtration flame atomic absorption spectrometry combination. *Analytica Chimica Acta*, 493, pp. 205-212.
- Narina, I., Soylak, M., Elci, L. and Dogan, M., 2001. Separation and Enrichment of Chromium, Copper, Nickel and Lead in Surface Seawater Samples on a Column Filled With Amberlite Xad-2000. *Analytical Letters* 34, pp. 1935-1947.
- Occupational Safety and Health Office., 1997. *An Introduction to the Guidelines for Workplace Health Surveillance*. In Labour, D.O. (Ed.), Occupational Safety and Health Service.
- Olmedo, P., Pla, A., Hernandez, A.F., Lopez-Guarnido, O., Rodrigo, L. and Gil, F., 2010. Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic

- absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 659, pp. 60-67.
- Saracoglu, S., Soylak, M. and Elci, L., 2003. Preconcentration of Cu (II), Fe (III), Ni (II), Co (II) and Pb (II) ions in some manganese salts with solid phase extraction method using chromosorb-102 resin. *Acta Chim Slov*, 50, pp. 807-814.
- Shahtaheri, S.J., Khadem, M., Golbabaei, F. and Rahimi Froushani, A., 2006. Preconcentration of Cadmium Using Amberlite Xad-4 Prior To Atomic Absorption Spectrometry. *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng*, 3, pp. 45-52.
- Shahtaheri, S.J., Khadem, M., Golbabaei, F., Rahimi-Froushan, A., Ganjali, M.R. and Norouzi, P., 2007a. Optimization of Sample Preparation Procedure for Evaluation of Occupational and Environmental Exposure to Nickel. *Iranian J Publ Health*, 36, pp. 73-81.
- Shahtaheri, S.J., Ghamari, F., Golbabaei, F., Rahimi Froushani, A. and Abdollahi, M., 2005. Sample Preparation Followed by High Performance Liquid Chromatographic (HPLC) Analysis for Monitoring Muconic Acid as a Biomarker of Occupational Exposure to Benzene. *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics (JOSE)*, 11, pp. 377-388.
- Shahtaheri, S.J., Khadem, M., Golbabaei, F., Rahimi-Froushan, A., Ganjali, M.R. and Norouzi, P., 2007b. Solid phase extraction for evaluation of occupational exposure to Pb (II) using XAD-4 sorbent prior to atomic absorption spectroscopy. *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics (JOSE)*, 13, pp. 137-145.
- Shan, U.A. and Ikram, N., 2012. Heavy metals in human scalp hair and nail samples from Pakistan: influence of working and smoking habits. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences (IJCBS)*, 1, pp. 54-58.
- Soylak, M. and Karatepe, A.U., 2003a. Column Preconcentration/Separation and Atomic Absorption Spectrometric Determinations of Some Heavy Metals in Table Salt Samples Using Amberlite XAD-1180. *Turk J Chem*, 27, pp. 235-242.
- Soylak, M., Saracoglu, S., Elci, L. and Dogan, M., 2003b. Solid Phase Preconcentration and Separation of Coppeer, Nickel, and Lead in Hemodialysis Concentrates and Urine on Amberlite XAD-1180 Resin. *Kuwait. J. Sci. Eng*, 30, pp. 95-109.
- Takara, E.A., Pasini-Cabello, S.D., Cerutti, S., Gasquez, J.A. and Martinez, L.D., 2005. On-line preconcentration/ determination of copper in parenteral solutions using activated carbon by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39, pp. 735-739.
- Tuzen, M., Soylak, M. and Elci, L., 2005. Multi-Element Pre-Concentration of Heavy Metal Ions by Solid Phase Extraction on Chromosorb 108. *Analytica Chimica Acta*, 548, pp. 101-108
- Were, F.H., Njue, W., Murungi, J. and Wanjau, R., 2008. Use of human nails as bio-indicators of heavy metals environmental exposure among school age children in Kenya. *Science of the Total Environment*, 393, pp. 376 - 384.
- Winder, C. and Stacey, N., 2004. *Occupational Toxicology*, Washington, D.C., CRC Press.
- Zhang, N., Tian, S. and Zhang, S., 2001. Determination of trace cadmium in human hair, fingernail and toenail for ten years by flame atomic absorption spectrometry. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi*, 21, pp. 393-396.
- Zhao, J., Shi, X., Castranova, V. and Ding, M., 2009. *Occupational toxicology of nickel and nickel compounds*. Begel House Inc.

## Biological evaluation of occupational exposure to nickel and lead with the solid-phase extraction method using Chromosorb-102 resin

**Khadem, M.,** Ph.D. Student, Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Shahtaheri, S.J.,** Ph.D. Professor, Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran- Corresponding author: shahtaheri@sina.tums.ac.ir

**Golbabaee, F.,** Ph.D. Professor, Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Rahimi Froushani, A.,** Ph.D. Associated professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences; Tehran, Iran

**Ganjali, M.R.,** Ph.D. Professor, Center of Excellence in Electrochemistry, University of Tehran, Tehran, Iran

**Faridbod, F.,** Ph.D. Assistant Professor, Center of Excellence in Electrochemistry, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: Jul 22, 2014

Accepted: Nov 10, 2014

### ABSTRACT

**Background and Aim:** The aim of this study was to assess exposure of workers in a metal industry to nickel and lead.

**Materials and Methods:** Extraction was done using the solid-phase extraction on Chromosorb-102 resin to prepare, concentrate and purify biological samples of urine, hair and nails of workers working in metal industries. The variables influencing response (pH, loading flow rate, elution solvent, and amount of resins, elution volume, and sample volume) were examined and the procedure was optimized. The optimized procedure was, then, validated based on the “within-day” and “day-to-day” reproducibility experiments, using low, medium and high concentrations, leading to a satisfactory accuracy and precision. Finally, lead and nickel samples were taken from the workers and their concentrations determined voltammetrically.

**Results:** The optimum values for the examined parameters were as follows: pH = 9, ligand concentration = 0.05%, loading flow rate = 5 ml/min, elution solvent = 2M HNO<sub>3</sub>, amount of resins = 500 mg, elution volume = 15 ml, and sample volume up to 500 ml. A good reproducibility and repeatability was obtained for the optimized method under the existing conditions. Lead and nickel could be extracted with recoveries in the range of 94-100%. On the whole, the concentrations of nickel and lead in the workers' biological samples were above the respective maximum permitted levels.

**Conclusion:** Solid-phase extraction procedure is a fast and simple method for preconcentrating and isolating analytes from biological samples. Considering the low concentrations of the analytes and presence of confounding factors in such samples, the procedure can be very effective for their preparation. The application of the developed method indicates that trace metal ions can be effectively purified and preconcentrated from different matrices like urine, hair and nail samples to assess occupational exposures.

**Keywords:** Solid-phase extraction, Sample Preparation, Heavy Metals, Urine, Nail, Hair