

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ТОКСИЧНЫХ, ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ И УСЛОВНО ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ШЕРСТИ АЛЬПАКА, ПОДГОТОВЛЕННЫХ К АНАЛИЗУ РАЗЛИЧНЫМИ СПОСОБАМИ

О.П. Айсувакова<sup>1,2\*</sup>, С.А. Gómez<sup>3</sup>, О.А. Скальная<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Россия

<sup>2</sup> Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН, Оренбург, Россия

<sup>3</sup> Национальный аграрный университет Ла Молина, Перу

<sup>4</sup> Центр биотической медицины, Москва, Россия

**РЕЗЮМЕ.** Методом масс-спектрометрии с индуктивной связанной плазмой (ИСП-МС) проведен элементный анализ шерсти альпака. Выполнена оценка влияния различных способов подготовки шерсти к анализу с использованием деионизированной воды и ацетона. Обнаружено снижение содержания Na в образцах шерсти, промытых деионизированной водой, и снижение Mg, Li, V, Ag, Cd, Ba в образцах, обработанных ацетоном. Полученные результаты содержания Na могут объясняться тем, что Na присутствует в волосах в виде простых катионов, не связанных с какими-то органическими соединениями прочными связями, тогда как полученные для Mg, Li, V, Ag, Cd, Ba результаты позволяют предположить связанность ионов этих элементов со структурными образованиями волоса. Достоверных различий в содержании остальных макро- и микроэлементов в шерсти альпака, прошедшей обработку водой деионизированной и ацетоном, не обнаружено.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** альпака, макроэлементы, микроэлементы, масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, ацетон, деионизированная вода.

### ВВЕДЕНИЕ

Эссенциальные микроэлементы играют значительную роль в поддержании здоровья жвачных животных (Tuhy et al., 2018). В частности, обеспеченность организма альпака (*Vicugna pacos*) минеральными веществами является одним из определяющих факторов нормального функционирования репродуктивной системы, что в значительной степени связано с особенностями метаболизма (Van Saun, 2008). Помимо этого, достаточно частым заболеванием *Vicugna pacos* является цинк-респонсивный дерматит (zinc-responsive dermatitis), составляющий до 23% случаев всех дерматологических заболеваний (Scott et al., 2011). Напротив, избыток эссенциальных металлов, таких как железо и цинк, ассоциирован с наличием суставной патологии как у представителей рода альпака, так и у лам (Semevolos et al., 2013).

Несмотря на то, что исследования, направленные на оценку характера воздействия токсичных металлов на здоровье альпака, практически отсутствуют, высокий риск избыточного воздействия токсичных металлов в Перу (преимущественный регион проживания) (Cooke, Abbott, 2008) свидетельствует о возможном негативном влиянии металлов на здоровье животных. Анализ шерсти альпака представляется инструментом мониторинга воздействия на организм животных токсичных металлов, таких как алюминий, кадмий или свинец (Squadrone et al., 2018). Например, у альпака была установлена положительная корреляция ( $r = 0,79$ ) между концентрациями свинца в цельной крови и в образцах шерсти (Ward, Savage, 1994). В единичных исследованиях проанализировано содержание химических элементов в шерсти альпака (Van Saun, 2008; Fan et al., 2010; Moore et al., 2011; Scott et al., 2011;

\* Адрес для переписки:

Айсувакова Ольга Павловна

E-mail: oajsuvakova@gmail.com

Semevolos et al., 2013), однако имеющиеся данные достаточно противоречивы. Данное направление также имеет принципиальное значение в условиях отсутствия информативных маркеров обеспеченности организма альпака эссенциальными металлами, такими как цинк и медь, поскольку концентрация металлов в плазме и цельной крови не характеризуется удовлетворительной взаимосвязью с интенсивностью их потребления с пищей (Pechová et al., 2017).

В качестве биомаркера волос человека и шерсть животных имеют ряд преимуществ. Образцы волос не меняют своего химического состава с течением времени, не требуют специальных условий сбора, хранения и транспортировки, а многие химические элементы способны к концентрированию в волосе, в результате чего их содержание в этом субстрате может превышать таковое в цельной крови, плазме и моче до десяти раз (Maugh, 1978; Emara et al., 2013). Волосы и шерсть являются уникальным материалом для получения информации о типе питания, месте жительства, образе жизни, воздействующих внешних факторах природного и искусственного происхождения (Sela et al., 2007; Gellein et al., 2008). Если жидкие субстраты (кровь, плазма, моча) отражают элементный статус одномоментно, то волосы, средняя скорость роста которых составляет примерно 1 см в месяц, хранят эту информацию гораздо более длительный период (Yukawa et al., 1984; Benner, Levin, 2005). Волосы и шерсть могут стать источником ценной информации в криминалистических исследованиях и при оценке загрязненности окружающей среды тяжелыми металлами (Weiss et al., 1972; Giovanoli-Jakubczak, Berg, 1974; Phelps et al., 1980; Shamberger, 2002; Robertson, Roux, 2010; Ogle, Fox, 2017).

Изучение микроэлементного состава шерсти и волоса сопровождается рядом трудностей, связанных как с преаналитическим, так и с аналитическими этапами (Bencko, 2005; Gellein et al., 2008). В литературе приводятся описания различных способов подготовки волос к анализу (Assarian, Oberleas, 1977; Salmela et al., 1981; Gellein et al., 2008). Волос и шерсть подвержены контаминации извне, благодаря воздействию атмосферы, влаги, пота и косметических препаратов (Chittleborough, 1980). Соответственно, определяемые в волосах микроэлементы могут иметь как эндогенное, так и экзогенное происхождение.

Детальное исследование характера распределения металлов в шерсти слонов и жирафов показало поверхностное расположение Al, Ti, Mg, Ca, Sr, Ba, и Mn в шерсти слонов, свидетельствуя об экзогенной природе данных отложений. В свою очередь, у жирафов большинство элементов (за исключением Mn) характеризовались эндогенной природой (Hu et al., 2018). Данное обстоятельство также подчеркивает необходимость исключения внешнего загрязнения при сравнении физиологически-обусловленного уровня металлов в организме.

Таким образом, проблема загрязнения поверхности волоса имеет первостепенное значение при анализе субстратов подобного типа. Более того, способ предварительной очистки образцов волос человека или шерсти животных, в том числе и альпака, имеет принципиальное значение для результатов анализа, поскольку химические элементы характеризуются гетерогенным распределением на всем сечении волоса (кутикула, корковый и мозговой слой) (Mucha, Janeczek, 2018). Одной из приоритетных задач анализа волос является отделение веществ эндогенного происхождения от экзогенных, что обуславливает важность отмывки образцов как необходимого элемента преаналитической пробоподготовки (Pozebon et al., 2017). При этом важным требованием является сохранение содержания металлов, эндогенно связанных с матрицей волоса (Kosanovic, Jokanovic, 2011). Использование ацетона для отмывки образцов волос считается наиболее подходящим способом для получения валидных данных о содержании металлов, в частности свинца, в волосах человека (Sen, Das Chaudhuri, 2001). Однако в качестве эффективных средств удаления жира и кожных выделений могут быть использованы детергенты, например Тритон X-100 (Gellein et al., 2008). При этом разработка и утверждение наиболее подходящей процедуры отмывки является сложным вопросом даже при наличии большого количества данных (Návesník et al., 2017), в связи с чем очевидна необходимость дальнейших работ в данном направлении.

Цель исследования – определение содержания химических элементов в шерсти альпака (*Vicugna pacos*) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой с использованием различных процедур отмывания образцов шерсти (с помощью воды очищенной и неводного растворителя – ацетона).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами, указанными в Хельсинкской декларации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Сеченовского университета (Москва, Россия). В настоящем исследовании использована шерсть 10 самцов альпака (*Vicugna pacos*), обитающих в высокогорных районах Перу, в возрасте 2 лет. Проксимальную часть (менее 1 см) прядей шерсти срезали ножницами из нержавеющей стали, предварительно очищенными этанолом для предотвращения возможного внешнего загрязнения. Образцы волос хранили в бумажных конвертах в сухом прохладном месте.

Перед анализом каждый образец шерсти разделяли на две части, каждую часть обрабатывали отдельно. Образцы из группы № 1 промывали ацетоном (о.с.ч., «Химмед», Россия), образцы из группы № 2 – деионизированной водой (18 МОм·см<sup>-1</sup>), полученной с помощью установки Merck Millipore (Merck, США). Затем образцы шерсти сушили на воздухе при комнатной температуре до полного высыхания. Через 24 ч навеску образцов очищенной шерсти альпака (0,1–0,15 г) помещали в тefлоновые пробирки для разложения в микроволновой печи. Взвешивание проводили с помощью аналитических весов Ohaus Pioneer (Ohaus, США). К навескам шерсти добавляли 0,5 мл концентрированной азотной кислоты (65%, Fluka, США), дополнительно очищенной с помощью фторопластовой установки для дистилляции кислот BSB-939-IR (Berghof Products & Instruments GmbH, Германия). Далее выполняли высокотемпературное (180 °С) микроволновое разложение образцов в течение 40 мин с использованием системы Berghof Speedwave 4 (Berghof Products & Instruments, Германия). После охлаждения образцы разбавляли деионизированной водой до общего объема 15 мл в полипропиленовых пробирках.

Методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в подготовленных образцах шерсти определяли уровень следующих химических элементов: Ag, Al, As, Au, B, Ba, Be, Bi, Br, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, Ge, Hg, I, In, K, La, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Nb, Ni, P, Pb, Pt, Rb, S, Sb, Se, Sn, Sr, Te, Ti, Tl, U, V, W, Zn, Zr. С целью минимизации влияния случайной погрешности

все аналитические определения выполняли в 6 повторностях. Масс-спектрометрический анализ проводили на спектрометре NexION 300D (PerkinElmer Inc., США), оснащённом автодозатором ESI SC-2 DX4 (Elemental Scientific Inc., США), в режиме использования реакционно-столкновительной ячейки (Dynamic Reaction Cell) для нивелирования спектральных положений. Для калибровки системы использовали растворы ионов металлов с концентрациями от 0,5 до 50 мкг/л, приготовленные с использованием набора стандартов Universal Data Acquisition Standards Kit (PerkinElmer Inc., США), которые разводили деионизированной водой с добавлением азотной кислоты (1%) для подавления гидролиза.

Для борьбы с матричными эффектами использовали внутренние стандарты иттрия и родия (10 мкг/л), приготовленные с помощью набора Yttrium (Y) and Rhodium (Rh) Pure Single-Element Standard kits (PerkinElmer Inc., США). Лабораторный контроль качества осуществляли с помощью сертифицированного референтного материала волос GBW09101 (Шанхайский институт ядерных исследований, Китай).

Для всех анализируемых элементов коэффициенты извлечения находились в интервале 88–109% и соответствовали тем пределам, которые производителем оценивались как допустимые.

Статистическую обработку данных элементного анализа проводили с использованием статистического программного пакета Statistica 10.0 («Statsoft», США). С помощью теста Шапиро–Уилка было установлено, что распределение данных о содержании элементов в шерсти альпака не характеризовалось нормальным распределением. В связи с этим в качестве описательной статистики использовали медианы и соответствующие 25- и 75-перцентили. Непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни применяли для парных групповых сравнений на уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные по содержанию макро и микроэлементов (эссенциальных, условно эссенциальных и токсичных) в шерсти альпака, обработанных деионизированной водой и ацетоном, приведены в табл. 1–4.

*Таблица 1. Оценка уровня макроэлементов в шерсти альпака (мкг/г), произведенная с использованием воды и ацетона*

Элемент	Ацетон	Вода деионизированная
Ca	1093 (1015–1832)	1527 (1455–1905)
K	294 (227–950)	261 (187–325)
Mg	139 (133–148)	195 (186–245) <sup>1</sup>
Na	122 (109–155)	74 (49–77) <sup>1</sup>
P	260 (245–320)	285 (239–316)
S	29791 (29082–33774)	29816 (25331–31231)

Примечание: данные представлены в виде медианы и соответствующих границ 1-го и 3-го квартилей; <sup>1</sup> – достоверность отличий по сравнению с группой № 1 при  $p < 0,05$ .

*Таблица 2. Оценка уровня эссенциальных и условно эссенциальных микроэлементов в шерсти альпака (мкг/г), произведенная с использованием воды и ацетона*

Элемент	Ацетон	Вода деионизированная
B	1,14 (0,96–1,36)	1,13 (0,97–1,18)
Br	6,65 (3,21–10,59)	3,37 (2,34–5,16)
Co	0,186 (0,151–0,231)	0,269 (0,205–0,330)
Cr	0,91 (0,65–1,07)	1,10 (0,99–1,34)
Cu	10,8 (10,0–12,8)	11,5 (9,9–12,6)
Fe	631 (506–721)	901 (562–1289)
Li	0,351 (0,298–0,408)	0,517 (0,354–0,792) <sup>1</sup>
Mn	26 (21–35)	32 (27–49)
Mo	0,077 (0,066–0,086)	0,093 (0,063–0,109)
Se	0,137 (0,112–0,149)	0,128 (0,112–0,150)
Sr	2,03 (1,84–2,34)	3,28 (2,54–3,51)
V	1,26 (1,15–1,39)	1,93 (1,27–2,79) <sup>1</sup>
Zn	145 (136–153)	140 (122–149)

Примечание: см. табл. 1.

*Таблица 3. Оценка уровня редких микроэлементов в шерсти альпака (мкг/г), произведенная с использованием воды и ацетона*

Элемент	Ацетон	Вода деионизированная
Ag	0,027 (0,022–0,029)	0,045 (0,037–0,061) <sup>1</sup>
Au	0,004 (0,003–0,005)	0,006 (0,004–0,008)
Cs	0,141 (0,096–0,170)	0,178 (0,117–0,292)
Ga	0,196 (0,152–0,237)	0,265 (0,156–0,379)
Ge	0,031 (0,011–0,036)	0,039 (0,032–0,046)
In	0,006 (0,005–0,007)	0,008 (0,005–0,009)
La	0,245 (0,200–0,275)	0,356 (0,235–0,456)
Nb	0,022 (0,018–0,030)	0,029 (0,021–0,043)
Pt	0,00008 (0,00003–0,00019)	0,0001 (0,0001–0,0002)
Rb	1,23 (0,78–1,71)	1,38 (1,08–1,79)
Te	0,008 (0,006–0,013)	0,011 (0,008–0,015)
Ti	0,86 (0,62–1,03)	1,06 (0,93–1,27)
U	0,029 (0,022–0,035)	0,039 (0,025–0,049)
W	0,010 (0,007–0,012)	0,012 (0,008–0,016)
Zr	0,308 (0,230–0,390)	0,365 (0,318–0,525)

Примечание: см. табл. 1.

*Таблица 4. Оценка уровня токсичных и потенциально токсичных микроэлементов в шерсти альпака (мкг/г), произведенная с использованием воды и ацетона*

Элемент	Ацетон	Вода деионизированная
Al	574 (418–747)	778 (454–1193)
As	1,96 (1,702,69)	2,69 (2,21–3,45)
Ba	5,40 (4,92–6,77)	8,37 (5,97–10,84) <sup>1</sup>
Be	0,021 (0,016–0,023)	0,028 (0,017–0,038)
Bi	0,136 (0,109–0,169)	0,180 (0,133–0,228)
Cd	0,102 (0,064–0,194)	0,229 (0,093–0,260) <sup>1</sup>
Hg	0,010 (0,005–0,016)	0,013 (0,008–0,018)
Ni	0,625 (0,539–0,835)	0,882 (0,734–1,048)
Pb	4,72 (3,70–5,78)	7,09 (5,12–7,80)
Sb	0,149 (0,137–0,303)	0,177 (0,160–0,379)
Sn	0,067 (0,050–0,075)	0,067 (0,050–0,087)
Tl	0,014 (0,011–0,016)	0,017 (0,012–0,027)

Примечание: см. табл. 1.

Вне зависимости от использованного для пробоподготовки растворителя, среди макроэлементов в образцах наиболее высоко содержание серы и кальция, затем калия и фосфора. Уровни натрия и магния в исследованных образцах оказались минимальными. Содержание эссенциальных и условно эссенциальных элементов убывало в ряду Fe > Zn > Mn > Cu > Br > Sr > V > B > Cr > Li > Co > Se > Mo. В группе редких элементов наиболее высока массовая концентрация Rb, Ti, Zr, La, Ga, Cs. Содержание серебра, германия, урана, ниобия, вольфрама и теллура варьирует в диапазоне от тысячных до сотых долей (0,008–0,045 мкг/г). Индий, золото и платина обнаружены в следовых количествах. Среди токсичных и потенциально токсичных элементов обращает на себя внимание очень высокий уровень алюминия (574–778 мкг/г), а также высокое содержание бария (5,40–8,37 мкг/г), свинца (4,72–7,09 мкг/г) и мышьяка (1,96–2,69 мкг/г). Концентрация остальных элементов последовательно уменьшается в ряду Ni, Cd, Bi, Sb, Sn, Be, Tl, Hg.

Полученные результаты согласуются с данными Mucha и Janeczek (2018), которые методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (EDX) установили концентрацию (atomic concentration, %) в шерсти альпака для меди (0,25±0,03), цинка (1,59±0,28), селена (0,75±0,17), кальция (0,14±0,02), фосфора (2,85±0,34), кремния (0,20±0,03) и серы (3,21±0,18). В анализируемом

случае процентные содержания цинка, кальция, фосфора, серы соответственно составили 1,45%, 0,11–0,15%, 2,60–2,85%, 2,89%, тогда как уровни меди (0,0011%) и селена ((1,25...1,35)·10<sup>-5</sup> %) оказались на несколько порядков ниже. Возможно, расхождение в содержаниях меди и селена связано с аналитическими особенностями (различными пределами обнаружения) методов ИСП-МС и EDX. При сопоставлении полученных данных с результатами Holasová (Holasová et al., 2017) наблюдалось хорошее согласование по уровням цинка и меди (10,22±2,90 и 129,81±19,01 мкг/г против полученных 11 и 140–145 мкг/г соответственно). В то же время содержание марганца в шерсти альпака оказалось выше в 2 раза, а селена – ниже в 3 раза в сравнении с результатами данных авторов (12,67±13,85 и 00,48±0,24 мкг/г для марганца и селена соответственно, Holasová et al., 2017). Вероятно, расхождение в уровнях селена и марганца может быть объяснено более низкой чувствительностью использованного в исследовании Holasová et al. (2017) метода атомной абсорбционной спектроскопии.

При сравнении разных типов подготовки шерсти к анализу существенные различия между группами наблюдались в случае натрия. Так, при обработке водой содержание этого элемента снижалось в 1,6 раза по сравнению с промытыми в деионизированной воде образцами шерсти. В случае магния, напротив, «вымывание» было большим при обработке образцов шерсти альпака чи-

стым ацетоном. Уровень магния в шерсти альпака снижался в 1,4 раза при использовании ацетона по сравнению с применением воды деионизированной. При обработке шерсти деионизированной водой содержание магния оказалось на 35% превышающим таковое у образцов, отмытых ацетоном. Уровни калия, кальция, фосфора и серы достоверно не изменялись. Концентрации лития, ванадия, серебра и бария выше в группе, прошедшей промывку деионизированной водой в сравнении с ацетоном (в 1,47; 1,53; 1,67; 1,55 раз соответственно).

Содержание натрия и калия убывает в ряду ацетон – вода. Возможно, это объясняется тем, что с увеличением воды в системе количество «вымываемых» ионов щелочных металлов растет. Можно предположить, что натрий и калий присутствуют в волосах в виде простых катионов, не связанных с какими-то органическими соединениями прочными связями. Магний и кальций демонстрируют обратную зависимость, что позволяет предположить связанность ионов  $Mg^{2+}$  структурными образованиями волоса. Второй причиной является факт того, что растворимость солей магния в воде ниже, чем у щелочных металлов. Поэтому, если на поверхности волоса имеются какие-либо неорганические или органические соли магния и кальция, то вода просто не способна их растворить так же эффективно, как в случае натрия.

Достоверных различий в содержании эссенциальных микроэлементов в шерсти альпака, прошедшей обработку водой деионизированной и ацетоном, не обнаружено. Возможно, это связано с необходимостью использования дополнительных процедур или реагентов по извлечению микроэлементов в жидкую фазу. Наиболее детальное исследование влияния процедур отмычки на содержание Cu, Mn и Zn в шерсти овец проведено Hawkins и Ragnarsdóttir (2009), которые не только установили характер влияния различных растворителей и агентов на результат исследования, но и селективность процедур в отношении отдельных металлов. Несмотря на то, что длительность воздействия ультразвука в целом повышает эффективность процедуры отмыывания волос, озвучивание, равно как и использование ЭДТА, может приводить к вымыванию эндогенно-связанных элементов, таких как, например, магний (Pozebon et al., 2017).

В случае токсичных элементов различие в их содержании между группами обнаружено

только для кадмия, концентрация которого в 2,25 раза выше в образцах шерсти, обработанных водой. Эти данные согласуются с результатами Morton et al. (2002). Этими авторами посредством использования лаурилсульфата, ЭДТА и соляной кислоты для отмыывания волос рабочих свинцового производства и волос, инкубированных с различными металлами, установлено, что применение различных процедур отмыывки позволяет отделить экзогенные и эндогенные соединения Cr, Cd, и Pb. В то же время подобное разделение крайне проблематично в отношении Sb, As, Hg и Se. В процессе изучения содержания химических элементов в шерсти лошадей методом oaTOF-ICP-MS, Návesník et al. (2017) также проводили анализ процедур для отмыывки образцов и при этом установили наибольшую эффективность у многокомпонентной процедуры, включающей отмыывание смесью азотной кислоты (0,1 М) в 1% Тритоне X, с последующим промыванием водой. Однако деталей анализа методов и содержания химических элементов в матрице или смывном материале авторы не приводят (Návesník et al., 2017). В сравнительном исследовании эффективности процессов отмыывки волос Borella et al. (1996) установили ряд процедур отмыывки волос по интенсивности вымывания металлов. В частности, наименьшая эффективность была продемонстрирована для воздействия ультразвука, тогда как наибольшая эффективность – для ЭДТА. В то же время использование ЭДТА и комбинации ацетона с метанолом приводило к повышению вариабельности результатов и увеличению содержания отдельных элементов. На основании анализа авторы предлагают использование Тритона X-100 в качестве альтернативы отмыыванию ацетоном/водой (Borella et al., 1996).

При изучении характеристик распределения металлов в крови и шерсти альпака установлено, что уровень металлов в матрице волоса убывает в следующем ряду: Al > Zn > Cu > Mn > Cr > Ni > Se > Pb > As > Cd, причем уровень Sn, Be, Hg, Sb и Tl был ниже предела обнаружения. Более того, сходные паттерны распределения металлов были выявлены и при анализе корма, что свидетельствует о роли внешних факторов и, в первую очередь, питания в определении уровня химических элементов в шерсти альпака (Squadrone et al., 2018).

Содержание металлов в шерсти альпака может быть подвержено влиянию факторов окру-

жающей среды, характеризуясь значительным повышением у животных, проживающих у автобана, по сравнению с контролем, уровня тяжелых металлов, таких как Pb (24,9 vs 12,4), Br (12,2 vs 9,8), Cd (4,6 vs 1,9). В содержании ряда металлов значительных различий выявлено не было: Cr (1,7 vs 1,4), Cu (18,6 vs 17,2), Mn (3,8 vs 3,4), Ni (2,9 vs 2,3), тогда как эссенциальные V (0,13 vs 0,11) и Zn (141 vs 120) имели выраженную тенденцию к снижению (Ward, Savage, 1994).

### ВЫВОДЫ

В результате исследования продемонстрировано влияние различных процедур преаналитической пробоподготовки на содержание макро- и микроэлементов в шерсти альпака. Следует учесть возможность того, что загрязненность используемых реактивов могла быть изначально неодинаковой, поэтому к результатам следует относиться с осторожностью даже там, где статистика дает достоверную разницу в содержании элементов. Кроме того, не имеется точных данных о том, в каких частях волоса локализованы различные элементы.

На первый взгляд, можно поделить элементы на три категории:

1) эндогенные (локализованы внутри, менее подвержены «вымыванию»);

2) экзогенные (поступившие в результате адсорбции из атмосферы или с потом и жиром на поверхность кожи). Логично предположить, что такие элементы располагаются на внешней части волоса и легко вымываются тем или иным растворителем в зависимости от химической природы их соединений (гидрофильности, способности связываться с функциональными группами белковых молекул и т.д.);

3) элементы, соединения которых частично адсорбированы из воздуха поверхностью волоса, частично – поступившие с пищей и т.д.

Выполняя валовой анализ, мы ничего не можем сказать о характере соединений элементов. Для d- и p-металлов большое значение имеет гидролиз, причем он тем сильнее, чем ниже концентрация ионов металла. Также соли одного и того же элемента, но в разных степенях окисления подвержены гидролизу в различной степени. Например, соли железа(III), очень хорошо растворимы в воде и гидролизуются сильно, тогда как соли железа(II) подвержены гидролизу в меньшей степени. Можно предположить, что даже если ионы таких металлов не связаны с

белками (или связаны, но непрочны), то при контакте с водой они переходят в малорастворимые оксиды, гидроксиды или гидроксоли. Поэтому «вымывание» их с поверхности идет не так легко, как, например, у калия и натрия.

Легкость вымывания некоторых элементов ацетоном может свидетельствовать о гидрофобном характере их соединений (например, эти элементы образуют металлоорганические соединения по типу метилированных и этилированных производных ртути, свинца, олова и т.д.). Вариабельность также может быть связана с качественным составом меланинов матрицы шерсти животных различного цвета (Fan et al., 2010), что согласуется с данными о более высоком содержании химических элементов в темной шерсти (Hawkins, Ragnarsdóttir, 2009).

Отметим, что даже при аналогичной плотности волокна шерсти альпака образцы меньшей толщины имеют больше контакта с воздушным потоком, что наряду с нарушением термоизоляции (Moore et al., 2011) также может сопровождаться большей степенью контакта и инкорпорации частиц металлов из окружающей среды.

В дальнейшем необходимо изучение парных образцов сыворотки крови и шерсти с последующей оценкой взаимосвязей между эндогенным уровнем отдельных элементов (сыворотка) и содержанием соединений разных химических элементов в образцах шерсти для выявления способов пробоподготовки, позволяющих добиться наиболее высокой индикаторной способности шерсти.

### ЛИТЕРАТУРА

- Assarian G.S., Oberleas D. Effect of washing procedures on trace-element content of hair. *Clin Chem.* 1999; 23:1771–1772.
- Bencko V. Hair and exposure to environmental pollutants. In: Tobin DJ (ed.) *Hair in toxicology: an important bio-monitor.* RSC, Cambridge. 2005; 127–159.
- Benner BA, Levin BC (2005) Hair and human identification. In: Tobin DJ (ed) *Hair in toxicology: an important bio-monitor.* RSC, Cambridge, pp 127 – 159
- Chittleborough G. A chemist's view of the analysis of human hair for trace elements. *Sci Total Environ.* 1980; 14:53–75.
- Cooke C.A., Abbott M.B. A paleolimnological perspective on industrial-era metal pollution in the central Andes, Peru. *Sci. Total Environ.* 2008; 393:262–272.
- Emara E.M., Imam H., Hassan M.A., Elnaby S.H. Biological application of laser induced breakdown spectroscopy technique for determination of trace elements in hair. *Talanta.* 2013; 117:176–183.

- Fan R., Yang G., Dong C. Study of hair melanins in various hair color Alpaca (*Lama Pacos*). *Asian-Australasian J. Animal. Sci.* 2010; 23:444–449.
- Gellein K., Lierhagen S., Brevik P.S., Teigen M., Kaur P., Singh T., Flatten T.P., Syversen T. Trace element profiles in single strands of human hair determined by HR-ICP-MS. *Biol. Trace Elem. Res.* 2008; 123:250–260.
- Giovanoli-Jakubczak T., Berg G.G. Measurement of mercury in human hair. *Arch Environ Health.* 1974; 28:139–144.
- Hawkins D.P., Ragnarsdóttir K.V. (2009). The Cu, Mn and Zn concentration of sheep wool: Influence of washing procedures, age and colour of matrix. *Sci. Total Environ.* 2009; 407:4140–4148.
- Holasová M., Pechová A., Husáková T. The evaluation of Cu, Zn, Mn, and Se concentrations in the hair of South American camelids. *Acta Veterinaria Brno.* 2017; 86:141–149.
- Hu L., Fernandez D.P., Cerling T.E. Longitudinal and transverse variation of trace element concentrations in elephant and giraffe hair: implication for endogenous and exogenous contributions. *Environ Monit Assess.* 2018; 190:644.
- Kosanovic M., Jokanovic M. Quantitative analysis of toxic and essential elements in human hair. Clinical validity of results. *Environ Monit. Assess.* 2011; 174:635–643.
- Maugh T.H. Hair: A diagnostic tool to complement blood serum and urine. *Science.* 1978; 202:1271–1273.
- Moore K.E., Blache D., Maloney S.K. Fibre diameter and insulation in alpacas: The biophysical implications. *Small Ruminant Res.* 2011; 96:165–172.
- Morton J., Carolan V.A., Gardiner P.H. Removal of exogenously bound elements from human hair by various washing procedures and determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 2002; 455:23–34.
- Mucha A., Janeczek M. Morphological and elemental analysis of alpaca hair using scanning electron microscopy with energy-dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDX). *Med. Weter.* 2018; 74:295–300.
- Návesník J., Krejčová A., Černohorský T., Pátková A., Petrovická I. High throughput method for multielemental analysis of horse hair by oTOF-ICP-MS. *Chem. Pap.* 2017; 71:991–998.
- Ogle Jr. R.R., Fox M.J. Atlas of human hair: microscopic characteristics. Boca Raton: CRC Press. 1999. 36 p.
- Pechová A., Husáková T., Pavlata L., Holasová M., Hauptmanová K. Assessment of the Zinc and Copper Status in Alpaca. *Biol. Trace Elem. Res.* 2018; 181:242–250.
- Phelps R.W., Clarkson T.W., Kershaw T.G., Wheatley B. Interrelationships of blood and hair mercury concentrations in a North American population exposed to methylmercury. *Arch. Environ Health.* 1980; 5:161–168.
- Pozebon D., Scheffler G.L., Dressler V.L. Elemental hair analysis: A review of procedures and applications. *Anal. Chim. Acta.* 2017; 992:1–23.
- Salmela S., Vuori E., Kilpiö J.O. The effect of washing procedures on trace element content of human hair. *Anal. Chim. Acta.* 1981; 125:131–137.
- Scott D.W., Vogel J.W., Fleis R.I., Miller Jr. W.H., Smith M.C. Skin diseases in the alpaca (*Vicugna pacos*): a literature review and retrospective analysis of 68 cases (Cornell University 1997–2006). *Vet Dermatol.* 2011. 22:2–16.
- Sela H., Karpas Z., Zoriy M., Pickhardt C., Becker J.S. Biomonitoring of hair samples by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS). *Int. J. Mass. Spectrom.* 2007; 261:199–207.
- Semevolos S.A., Reed S.K., Schultz L.G. Evaluation of serum trace mineral, vitamin D, and sex steroid hormone concentration, and survey data in llamas and alpacas with metacarpophalangeal and metatarsophalangeal hyperextension. *Am. J. Vet. Res.* 2013; 74:48–52.
- Sen J., Das Chaudhuri A.B. Brief communication: choice of washing method of hair samples for trace element analysis in environmental studies. *Am. J. Phys. Anthropol.* 2001. 115:289–291.
- Shamberger R.J. Validity of hair mineral testing. *Biol Trace Elem Res.* 2002. 87:1–28.
- Squadrone S., Abete M.C., Rizzi M., Monaco G., Favaro L. Bioaccumulation of Trace and Non-trace Elements in Blood and Fibers of Alpacas (*Vicugna pacos*) that Graze in Italian Pastures. *Water Air Soil Poll.* 2018; 229:41.
- Tuhy L., Dmytryk A., Samoraj M., Chojnacka K. Trace Elements in Animal Nutrition. In: Chojnacka K., Saeid A. *Recent Advances in Trace Element.* 2018. John Wiley & Sons Ltd, Hoboken. 2018; 319–377.
- Van Saun R.J. Effect of nutrition on reproduction in llamas and alpacas. *Theriogenology.* 2008; 70:508–514.
- Ward N.I., Savage J.M. Elemental status of grazing animals located adjacent to the London Orbital (M25) motorway. *Sci Total Environ.* 1994; 146:185–189.
- Weiss D., Whitten B., Leddy D. Lead content of human hair (1871–1971). *Science.* 1972; 178:69–70.
- Yukawa M, Suzuki-Yasumoto M, Tanaka S. The variation of trace element concentration in human hair: the trace element profile in human long hair by sectional analysis using neutron activation analysis. *Sci. Total Environ.* 1984; 38:41–54.

## DETERMINATION OF TOXIC, ESSENTIAL AND RELATIVELY ESSENTIAL ELEMENTS LEVEL IN ALPACA HAIR WITH USING OF DIFFERENT SAMPLING TYPES

*O.P. Ajsuvakova<sup>1,2</sup>, C.A. Gómez<sup>3</sup>, O.A. Skalnaya<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Yaroslavl State University named after P.G. Demidov, Sovetskaya St., 14, Yaroslavl, 150000, Russia

<sup>2</sup>Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 9 Yanvaryia Str, 29, Orenburg, 460000, Russia

<sup>3</sup>Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Molina s/n, Lima, 15000, Peru

<sup>4</sup>ANO Center for Biotic Medicine, Zemlyanoi Val 46, Moscow, 105064, Russia

**ABSTRACT.** The method of inductive coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was used for elemental analysis of alpaca hair. Various methods impact of hair sampling for analysis was evaluated with using deionized water and acetone. Sodium content decrease in the in hair samples washed with deionized water and Mg, Li, V, Ag, Cd, Ba level decrease in samples treated with acetone were found. The results can be explained by sodium attendance in the hair in the form of simple cations that are not bound to any organic compounds by strong bonds, while the results obtained for Mg, Li, V, Ag, Cd, Ba, suggest that the ions of these elements are connected with structural hair formations. Significant differences in the content of other macro- and microelements in alpaca hair treated with deionized water and acetone were not found.

**KEYWORDS:** alpaca, macro elements, trace elements, inductively coupled plasma mass spectrometry, acetone, deionized water.

### REFERENCES

- Assarian G.S., Oberleas D. Effect of washing procedures on trace-element content of hair. *Clin Chem.* 1999; 23:1771–1772.
- Bencko V. Hair and exposure to environmental pollutants. In: Tobin DJ (ed.) *Hair in toxicology: an important bio-monitor.* RSC, Cambridge. 2005; 127–159.
- Benner BA, Levin BC (2005) Hair and human identification. In: Tobin DJ (ed) *Hair in toxicology: an important bio-monitor.* RSC, Cambridge, pp 127 – 159
- Chittleborough G. A chemist's view of the analysis of human hair for trace elements. *Sci Total Environ.* 1980; 14:53–75.
- Cooke C.A., Abbott M.B. A paleolimnological perspective on industrial-era metal pollution in the central Andes, Peru. *Sci. Total Environ.* 2008; 393:262–272.
- Emara E.M., Imam H., Hassan M.A., Elnaby S.H. Biological application of laser induced breakdown spectroscopy technique for determination of trace elements in hair. *Talanta.* 2013; 117:176–183.
- Fan R., Yang G., Dong C. Study of hair melanins in various hair color Alpaca (*Lama Pacos*). *Asian-Australasian J. Animal. Sci.* 2010; 23:444–449.
- Gellein K., Lierhagen S., Brevik P.S., Teigen M., Kaur P., Singh T., Flatten T.P., Syversen T. Trace element profiles in single strands of human hair determined by HR-ICP-MS. *Biol. Trace Elem. Res.* 2008; 123:250–260.
- Giovanoli-Jakubczak T., Berg G.G. Measurement of mercury in human hair. *Arch Environ Health.* 1974; 28:139–144.
- Hawkins D.P., Ragnarsdóttir K.V. (2009). The Cu, Mn and Zn concentration of sheep wool: Influence of washing procedures, age and colour of matrix. *Sci. Total Environ.* 2009; 407:4140–4148.
- Holasová M., Pechová A., Husáková T. The evaluation of Cu, Zn, Mn, and Se concentrations in the hair of South American camelids. *Acta Veterinaria Brno.* 2017; 86:141–149.
- Hu L., Fernandez D.P., Cerling T.E. Longitudinal and transverse variation of trace element concentrations in elephant and giraffe hair: implication for endogenous and exogenous contributions. *Environ Monit Assess.* 2018; 190:644.
- Kosanovic M., Jokanovic M. Quantitative analysis of toxic and essential elements in human hair. Clinical validity of results. *Environ Monit. Assess.* 2011; 174:635–643.
- Maugh T.H. Hair: A diagnostic tool to complement blood serum and urine. *Science.* 1978; 202:1271–1273.
- Moore K.E., Blache D., Maloney S.K. Fibre diameter and insulation in alpacas: The biophysical implications. *Small Ruminant Res.* 2011; 96:165–172.
- Morton J., Carolan V.A., Gardiner P.H. Removal of exogenously bound elements from human hair by various washing procedures and determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 2002; 455:23–34.

- Mucha A., Janeczek M. Morphological and elemental analysis of alpaca hair using scanning electron microscopy with energy-dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDX). *Med. Weter.* 2018; 74:295–300.
- Návesník J., Krejčová A., Černohorský T., Pátková A., Petrovická I. High throughput method for multielemental analysis of horse hair by oaTOF-ICP-MS. *Chem. Pap.* 2017; 71:991–998.
- Ogle Jr. R.R., Fox M.J. *Atlas of human hair: microscopic characteristics.* Boca Raton: CRC Press. 1999. 36 p.
- Pechová A., Husáková T., Pavlata L., Holasová M., Hauptmanová K. Assessment of the Zinc and Copper Status in Alpaca. *Biol. Trace Elem. Res.* 2018; 181:242–250.
- Phelps R.W., Clarkson T.W., Kershaw T.G., Wheatley B. Interrelationships of blood and hair mercury concentrations in a North American population exposed to methylmercury. *Arch. Environ Health.* 1980; 5:161–168.
- Pozebon D., Scheffler G.L., Dressler V.L. Elemental hair analysis: A review of procedures and applications. *Anal. Chim. Acta.* 2017; 992:1–23.
- Salmela S., Vuori E., Kilpiö J.O. The effect of washing procedures on trace element content of human hair. *Anal. Chim. Acta.* 1981; 125:131–137.
- Scott D.W., Vogel J.W., Fleis R.I., Miller Jr. W.H., Smith M.C. Skin diseases in the alpaca (*Vicugna pacos*): a literature review and retrospective analysis of 68 cases (Cornell University 1997–2006). *Vet Dermatol.* 2011. 22:2–16.
- Sela H., Karpas Z., Zoriv M., Pickhardt C., Becker J.S. Biomonitoring of hair samples by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS). *Int. J. Mass. Spectrom.* 2007; 261:199–207.
- Semevolos S.A., Reed S.K., Schultz L.G. Evaluation of serum trace mineral, vitamin D, and sex steroid hormone concentration, and survey data in llamas and alpacas with metacarpophalangeal and metatarsophalangeal hyperextension. *Am. J. Vet. Res.* 2013; 74:48–52.
- Sen J., Das Chaudhuri A.B. Brief communication: choice of washing method of hair samples for trace element analysis in environmental studies. *Am. J. Phys. Anthropol.* 2001. 115:289–291.
- Shamberger R.J. Validity of hair mineral testing. *Biol Trace Elem Res.* 2002. 87:1–28.
- Squadrone S., Abete M.C., Rizzi M., Monaco G., Favaro L. Bioaccumulation of Trace and Non-trace Elements in Blood and Fibers of Alpacas (*Vicugna pacos*) that Graze in Italian Pastures. *Water Air Soil Poll.* 2018; 229:41.
- Tuhy L., Dmytryk A., Samoraj M., Chojnacka K. Trace Elements in Animal Nutrition. In: Chojnacka K., Saeid A. *Recent Advances in Trace Element.* 2018. John Wiley & Sons Ltd, Hoboken. 2018; 319–377.
- Van Saun R.J. Effect of nutrition on reproduction in llamas and alpacas. *Theriogenology.* 2008; 70:508–514.
- Ward N.I., Savage J.M. Elemental status of grazing animals located adjacent to the London Orbital (M25) motorway. *Sci Total Environ.* 1994; 146:185–189.
- Weiss D., Whitten B., Leddy D. Lead content of human hair (1871–1971). *Science.* 1972; 178:69–70.
- Yukawa M, Suzuki-Yasumoto M, Tanaka S. The variation of trace element concentration in human hair: the trace element profile in human long hair by sectional analysis using neutron activation analysis. *Sci. Total Environ.* 1984; 38:41–54.