

УДК 543.42:543.64

*О.М. Чеботарьов<sup>а</sup>, Р.Р. Косандяк<sup>а</sup>, К.В. Снігур<sup>а</sup>, М.В. Арабаджи<sup>б</sup>, Д.В. Снігур<sup>а</sup>***ПОРІВНЯЛЬНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НАТРІЮ У СЛИНІ МЕТОДАМИ АТОМНО-АБСОРБЦІЙНОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ ТА ПОЛУМ'ЯНОЇ ФОТОМЕТРІЇ**<sup>а</sup> Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, м. Одеса, Україна<sup>б</sup> ДУ «Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології МОЗ України», м. Одеса, Україна

Виконано порівняльний аналіз можливостей визначення натрію у слині людини методами атомно-абсорбційної спектrophотометрії із полум'яною атомізацією (ацетилен-повітря) та емісійної фотометрії полум'я (пропан-бутан-повітря). Показано, що основні органічні та мінеральні компоненти слини не заважають визначенню натрію запропонованими методиками. Відмічено, що висота зони фотометрування полум'я істотно не впливає на величину аналітичного сигналу. Градувальні графіки лінійні у широких інтервалах концентрацій 0,02–0,40 ммоль/л та 0,03–0,20 ммоль/л для полум'яно-фотометричного та атомно-абсорбційного методів, відповідно. На основі отриманих градувальних графіків розраховані межі виявлення (0,009 і 0,006 ммоль/л) та визначення (0,03 і 0,02 ммоль/л) для атомно-абсорбційного та полум'яно-фотометричного методів, відповідно. Розроблені методики визначення натрію успішно апробовані при аналізі зразків слини пацієнтів різної статі та віку. Величина відносного стандартного відхилення при визначенні натрію не перевищує 5%. Запропоновані атомно-абсорбційна та полум'яно-фотометрична методики селективні та характеризуються достатньою чутливістю, задовільною відтворюваністю, а також простотою виконання, експресністю та екологічністю.

**Ключові слова:** натрій, слина, атомно-абсорбційна спектrophотометрія, полум'яна фотометрія, клінічний аналіз.

DOI: 10.32434/0321-4095-2019-127-6-263-267

**Вступ**

В останній час зросла увага до вивчення властивостей слинного секрету у людини, що пов'язано з можливостями, які відкриваються для клінічного аналізу та діагностики. З одного боку, привабливою виглядає простота взяття проб слинної рідини, а також можливість їх частого відбору. З іншого боку, взяття проб слини є безпечним для здоров'я пацієнта [1]. Таким чином, аналіз слини являє собою одну із найбільш значущих альтернатив аналізу крові, який не тільки доповнює його, але й в деяких випадках дозволяє його замінити.

У свою чергу, привертає увагу можливість діагностування патологічних станів різноманітних систем організму, у тому числі й електролітних. Натрій за вмістом у живих організмах відно-

ситься до незамінних макроелементів та активно бере участь у метаболізмі, а також є одним із основних катіонів позаклітинної рідини. Так, наприклад, нормальний вміст натрію у слині знаходиться в інтервалі 6–24 ммоль/л, а його різке збільшення може свідчити про артеріальну гіпертензію, що є фактором ризику розвитку післяопераційних ускладнень у хворих із хірургічною патологією, яким часто передують супутні гіпертонічні захворювання [1,2].

Серед аналітичних методів визначення натрію основними є іонометричний [3] та полум'яно-фотометричний [4]. Обмеженням для іонометричного визначення натрію є малий об'єм аналізованих біологічних рідин, що вимагає використання ультрамікроелектродів [5]. Для визначення натрію у сироватці крові запропо-

нована іонна хроматографія з кондуктометричним детектуванням [6]. Цікаво відмітити, що для визначення натрію у слині пропонуються атомно-емісійна спектроскопія з індуктивно зв'язаною плазмою [7] та імуноферментні методи [8], а достатньо простим, експресним та ефективним методам полум'яної фотометрії та атомно-абсорбційної спектروفотометрії приділена недостатня увага [7,9].

Виходячи із вищевикладеного, мета даної роботи полягає у розробці методик визначення натрію у слині людини методами емісійної фотометрії полум'я та атомно-абсорбційної спектروفотометрії з полум'яною атомізацією.

#### Експериментальна частина

Розчин Na з концентрацією 0,1 моль/л готували із фіксаналу, а розчини з меншими концентраціями – шляхом відповідного розведення вихідного безпосередньо перед використанням. Модельні розчини слини готували згідно з пропозицією [10], а забір слини здійснювали відповідно до рекомендацій [11,12]. Для приготування розчинів використовували бідистильовану воду, а всі використовувані реактиви мали кваліфікацію не нижчу «х.ч.».

Атомне поглинання вимірювали на атомно-абсорбційному спектروفотометрі «Сатурн» із застосуванням однощільного пальника та полум'я ацетилен–повітря. Як джерело випромінювання використовували високочастотні безелектродні лампи ВСБ-2 з резонансною лінією 589,0 нм. Для емісійного визначення натрію використовували полум'яний фотометр ПФМ-1 із пальником Меккера та полум'ям пропан–бутан–повітря.

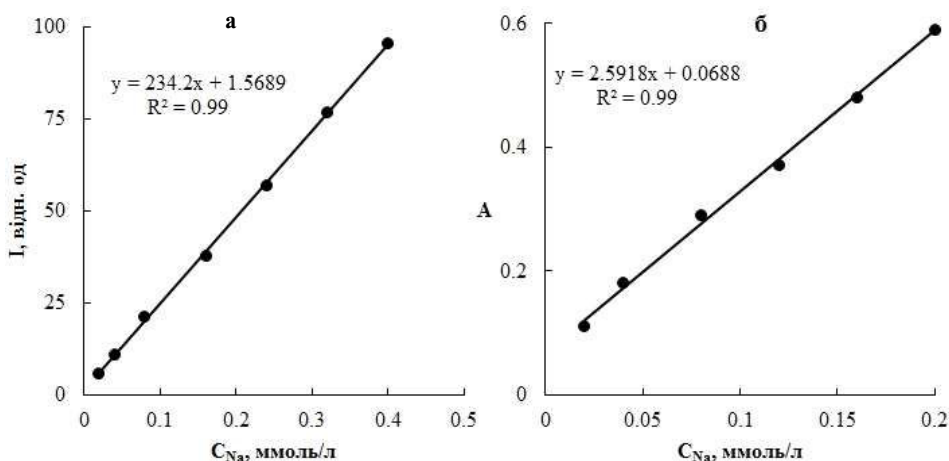
#### Результати та їх обговорення

Попередньо встановлено, що при атомно-абсорбційному визначенні натрію у полум'ї ацетилен–повітря висота зони фотометрування істотно не впливає на величину атомного поглинання. Максимальний аналітичний сигнал досягається при використанні окиснювального полум'я. При емісійному визначенні натрію використовували ламінарне полум'я з чітким внутрішнім конусом. Відповідні градувальні графіки для атомно-абсорбційного та атомно-емісійного визначення натрію наведені на рисунку.

Як видно з рисунка, градувальні графіки лінійні у широкому інтервалі концентрацій: 0,02–0,40 ммоль/л та 0,03–0,20 ммоль/л для полум'яної фотометрії та атомно-абсорбційної спектروفотометрії, відповідно. На основі отриманих градувальних графіків розраховані межі виявлення (0,009 та 0,006 ммоль/л) та визначення (0,03 та 0,02 ммоль/л), для атомно-абсорбційного та полум'яно-фотометричного методів, відповідно.

Основні макрокомпоненти слинної рідини істотно не впливають на атомне поглинання натрію, однак можуть впливати на його полум'яно-фотометричне визначення. Вивчено вплив таких сполук на величину емісійного сигналу натрію та показано, що його визначенню не заважає присутність наступних речовин у зазначених мольних відношеннях:  $K^+$  – 5;  $Ca^{2+}$  – 10;  $Mg^{2+}$  – 150;  $Cl^-$  – 500;  $PO_4^{3-}$  – 1000;  $SO_4^{2-}$  – 150; глюкоза – 15; альбумін – 200;  $NH_2CH_2COOH$  – 1000.

Запропоновані методики визначення натрію апробовані при аналізі зразків слини лю-



Градувальні графіки для визначення натрію у варіантах а) полум'яної фотометрії та б) атомно-абсорбційної спектروفотометрії

**Визначення натрію у слині методами атомно-абсорбційної спектрофотометрії та полум'яної фотометрії (n=5, P=0,95)**

Аналізований зразок (стать/вік)	Метод				Метрологічна оцінка	
	Емісійна фотометрія полум'я		Атомно-абсорбційна спектрофотометрія		F <sub>експ</sub> (F <sub>табл</sub> =6,39)	t <sub>експ</sub> (t <sub>табл</sub> =2,78)
	Вміст натрію, ммоль/л (Sr, %)					
	Введено	Знайдено	Введено	Знайдено		
Ч/18	–	4,11±0,21 (4,1)	–	4,05±0,17 (3,5)	1,41	0,54
	2,0	6,35±0,35 (4,5)	2,0	6,12±0,33 (4,4)	1,13	1,17
Ч/18	–	3,46±0,19 (4,4)	–	3,35±0,13 (3,1)	2,15	1,19
	2,0	5,41±0,28 (4,2)	2,0	5,38±0,26 (3,9)	1,17	0,19
Ч/и18	–	3,91±0,18 (3,8)	–	3,97±0,20 (4,1)	1,20	0,55
	2,0	6,02±0,37 (4,9)	2,0	6,11±0,33(4,3)	1,26	0,46
Ч/18	–	5,58±0,33 (4,8)	–	5,44±0,26 (3,8)	1,68	0,83
	2,0	7,60±0,44 (4,7)	2,0	7,51±0,33 (3,6)	1,75	0,40
Ч/18	–	6,70±0,31 (3,7)	–	6,55±0,32 (4,1)	1,17	0,82
	3,0	9,75±0,47 (3,9)	3,0	9,60±0,48 (4,0)	1,02	0,56
Ч/19	–	9,70±0,55 (4,6)	–	9,82±0,59 (4,8)	1,12	0,37
	5,0	14,6±0,91 (5,0)	5,0	14,9±0,79 (4,3)	1,29	0,62
Ч/21	–	14,9±0,79 (4,3)	–	14,7±0,86 (4,7)	1,16	0,42
	5,0	20,1±1,25 (4,9)	5,0	19,6±1,12 (4,6)	1,19	0,75
Ч/26	–	7,44±0,41 (4,4)	–	7,35±0,36 (3,9)	1,30	0,41
	3,0	10,5±0,59 (4,5)	3,0	10,4±0,53 (4,1)	1,23	0,31
Ж/19	–	3,87±0,19 (3,9)	–	3,75±0,23 (5,0)	1,54	0,99
	1,0	4,95±0,29 (4,7)	1,0	4,88±0,27 (4,4)	1,17	0,44
Ж/21	–	4,67±0,22 (3,8)	–	4,75±0,25 (4,2)	1,26	0,60
	2,0	6,65±0,32 (3,9)	2,0	6,78±0,34 (4,0)	1,09	0,69
Ж/26	–	12,6±0,55 (3,5)	–	12,4±0,68 (4,4)	1,53	0,57
	5,0	17,4±0,97 (4,5)	5,0	17,5±1,06 (4,9)	1,19	0,17
Ж/26	–	18,1±1,08 (4,8)	–	18,0±1,05 (4,7)	1,05	0,16
	5,0	23,2±1,41 (4,9)	5,0	23,0±1,23 (4,3)	1,32	0,27
Ж/26	–	10,9±0,59 (4,4)	–	10,7±0,64 (4,8)	1,15	0,57
	5,0	15,8±0,92 (4,7)	5,0	15,7±0,88 (4,5)	1,10	0,19
Ж/27	–	8,36±0,48 (4,6)	–	8,25±0,34 (3,3)	1,99	0,47
	4,0	12,5±0,65 (4,2)	4,0	12,3±0,57 (3,7)	1,33	0,58

дини (таблиця). З огляду на відсутність стандартних зразків складу слини для оцінювання правильності отриманих результатів порівнювали дані, що одержані обома методами, а також використовували спосіб «введено–знайдено». Аналіз даних, наданих у таблиці, з використанням критеріїв Фішера та Ст'юдента дозволяє зробити висновок про правильність визначення натрію у слині, а значення відносного стандартного відхилення вказують на задовільну відтворюваність запропонованих методик.

*Підготовка проби до аналізу*

Аналізовані проби слини центрифугують протягом 5 хв при 3000 об./хв, аліквоту центрифугату розбавляють бідистильованою водою та виконують аналіз, як при побудові градувального графіка. Вміст натрію знаходять за граду-

ювальним графіком або методом добавок.

*Побудова градувальних графіків для визначення натрію методами атомно-абсорбційної спектрофотометрії та полум'яної фотометрії*

У низку колб місткістю 25 см<sup>3</sup> послідовно вносять 1,0–2,0–4,0–6,0–8,0–10,0 см<sup>3</sup> (для полум'яно-фотометричного методу) або 1,0–2,0–3,0–4,0–5,0 см<sup>3</sup> (для атомно-абсорбційного методу) робочого розчину натрію (1 ммоль/дм<sup>3</sup>) і розбавляють бідистильованою водою. Вимірюють атомне поглинання у полум'ї ацетилен–повітря або інтенсивність випромінювання у полум'ї пропан–бутан–повітря.

**Висновки**

Таким чином, у результаті даної роботи розроблені методики емісійного полум'яно-фотометричного та атомно-абсорбційного з полу-

м'яною атомізацією визначення натрію в слині. Градувальні графіки лінійні в інтервалах концентрацій 0,02–0,40 ммоль/л і 0,03–0,20 ммоль/л, відповідно. Межі визначення складають 0,03 та 0,02 ммоль/л для атомно-абсорбційного та полум'яно-фотометричного методів, відповідно. Показано, що основні компоненти слини не заважають визначенню натрію запропонованими методиками. Відмічено, що висота зони фотометрування полум'я істотно не впливає на аналітичний сигнал. Запропоновані методики успішно апробовані при аналізі зразків слини людини, а відносно стандартне відхилення не перевищує 5%.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Клиническая биохимия* / Бочков В.Н., Добровольский А.Б., Кушлинский Н.Е., Логинов В.А. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 512 с.
2. Iorgulescu G. Saliva between normal and pathological. Important factors in determining systemic and oral health // *J. Med. Life*. – 2009. – Vol.2. – No. 3. – P.303-307.
3. *Натрий* (Серия: Аналитическая химия элементов) / Иванов В.М., Семененко К.А., Прохорова Г.В., Симонов Е.Ф. – М.: Наука, 1986. – 255 с.
4. Broekaert J.A.C. Analytical atomic spectrometry with flames and plasmas. – Wiley-VCH, 2002. – 364 p.
5. An automated technique for the simultaneous determination of cations in nanoliter volumes / Stocking C.J., Slater J.M., Unwin R., Walter S., Folkard E. // *Kidney Int*. – 1999. – Vol.56. – P.338-343.
6. Thienpont L.M., Van Nuwenborg J.E., Stockl D. Ion chromatography as potential reference methodology for the determination of total sodium and potassium in human serum // *J. Chromatogr. A*. – 1995. – Vol.706. – P.443-450.
7. *Определение натрия и калия в биологических объектах методами атомно-абсорбционной и атомно-эмиссионной спектроскопии* / Мазняк Н.В., Верхотурова А.П., Лосев В.Н., Замай Т.Н. // *J. Sib. Fed. Univ. Chem*. – 2012. – Vol.5. – No. 3. – P. 320-330.
8. Хейль В., Коберштейн Р., Цавта Б. Референтные пределы у взрослых и детей. Преаналитические предосторожности. – М.: Лабпресс, 2001. – 176 с.
9. Comparison between the use of saliva and blood for the minimum lactate determination in arm ergometer and cycle ergometer in table tennis players / Zagatto A.M., Papoti M., Caputo F., Mendes O., Denadai B.S., Baldissera V., Gobatto C.A. // *Rev. Bras. Med. Esporte*. – 2004. – Vol.10. – No. 6. – P.481-486.
10. The composition, function and role of saliva in maintaining oral health: a review / Kumar B., Kashyap N., Avinash A., Chevuri R., Sagar M.K., Shrikant K. // *Int. J. Contemp. Dent*.

*Med. Rev.* – 2017. – Article No. 011217.

11. *Developments in diagnostic applications of saliva in oral and systemic diseases – a comprehensive review* / Arunkumar S., Arunkumar J.S., Burde K.N., Shakunthala G.K. // *J. Sci. Innovat. Res.* – 2014. – Vol.3. – No. 3. – P.372-387.

12. *Kinetic-spectrophotometric determination of thiocyanate in human saliva based on Landolt effect in presence of astraflaxine FF* / Chebotarev A., Dubovyi V., Barbalat D., Guzenko E., Bevziuk K., Snigur D. // *Acta Chim. Slov.* – 2019. – Vol.66. – P.163-167.

13. Пуньшев А.А. Атомно-абсорбционный спектральный анализ. – М.: Техносфера, 2009. – 784 с.

Надійшла до редакції 18.09.2019

## COMPARATIVE DETERMINATION OF SODIUM IN SALIVA BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY AND FLAME PHOTOMETRY

A.N. Chebotarev <sup>a,\*</sup>, R.R. Kosandiak <sup>a</sup>, K.V. Snihur <sup>a</sup>, M.V. Arabadji <sup>b</sup>, D.V. Snigur <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Odessa I.I. Mechnikov National University, Odessa, Ukraine

<sup>b</sup> Ukrainian Research Institute of Medical Rehabilitation and Balneology of Ministry of Health of Ukraine, Odessa, Ukraine

\* e-mail: alexch@ukr.net

A comparative analysis of the determination of sodium in human saliva by atomic absorption spectrophotometry with flame atomization (acetylene-air) and flame photometry (propane-butane-air) was carried out. It was shown that the main organic and mineral components of human saliva do not interfere with the determination of sodium by the proposed techniques. The height of the flame photometric zone does not significantly affect the value of the analytical signal. Calibration graphs are linear in a wide concentration range of 0.02–0.40 mmol L<sup>-1</sup> and 0.03–0.20 mmol L<sup>-1</sup> for flame photometric and atomic absorption methods, respectively. Based on the obtained calibration plots, the detection limits (0.009 and 0.006 mmol L<sup>-1</sup>) and the limits of quantification (0.03 and 0.02 mmol L<sup>-1</sup>) were calculated for atomic absorption and flame photometric techniques, respectively. The developed methods for the determination of sodium have been successfully tested in the analysis of saliva samples of patients of different sex and age. The relative standard deviation of sodium determination does not exceed 5%. The proposed atomic absorption and flame photometric techniques are selective and characterized by sufficient sensitivity and acceptable reproducibility; they are ease of use, rapid and environmental friendly.

**Keywords:** sodium; saliva; atomic absorption spectrophotometry; flame photometry; clinical analysis.

## REFERENCES

1. Bochkov V.N., Dobrovolskii A.B., Kushlinskii N.E., Loginov V.A., *Klinicheskaya biokhimiya* [Clinical biochemistry]. GEOTAR-MED Publishers, Moscow, 2004. 512 p. (in Russian).
2. Iorgulescu G. Saliva between normal and pathological. Important factors in determining systemic and oral health. *Journal of Medicine and Life*, 2009, vol. 2, no. 3, pp. 303-307.
3. Ivanov V.M., Semenenko K.A., Prokhorova G.V., Simonov E.F., *Natrii* (Series: Analytical chemistry of elements). Nauka, Moscow, 1986. 255 p. (in Russian).

4. Broekaert J.A.C., *Analytical atomic spectrometry with flames and plasmas*. Wiley-VCH, 2002. 364 p.
5. Stocking C.J., Slater J.M., Unwin R., Walter S., Folkard E. An automated technique for the simultaneous determination of cations in nanoliter volumes. *Kidney International*, 1999, vol. 56, pp. 338-343.
6. Thienpont L.M., Van Nuwenborg J.E., Stockl D. Ion chromatography as potential reference methodology for the determination of total sodium and potassium in human serum. *Journal of Chromatography A*, 1995, vol. 706, pp. 443-450.
7. Maznyak N.V., Verhoturova A.P., Losev V.N., Zamaj T.N. Opredelenie natriya i kaliya v biologicheskikh ob'ektakh metodami atomno-absorbtsionnoi i atomno-emissionnoi spektroskopii [Determination of sodium and potassium in biological samples by atomic absorption and atomic emission spectrometry]. *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*, 2012, vol. 5, no. 3, pp. 320-330. (in Russian).
8. Heil' V., Kobershtein R., Cavta B., *Referentnye predely u vzroslykh i detei. Preanaliticheskie predostorozhnosti* [Reference limits in adults and children: preanalytical precautions]. Labpress Publishers, Moscow, 2001. 176 p. (in Russian).
9. Zagatto A.M., Papoti M., Caputo F., de Castro Mendes O., Denadai B.S., Baldissera V., Gobatto C.A. Comparison between the use of saliva and blood for the minimum lactate determination in arm ergometer and cycle ergometer in table tennis players. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 2004, vol. 10, no 6, pp. 475-480.
10. Kumar B., Kashyap N., Avinash A., Chevuri R., Sagar M.K., Shrikant K. The composition, function and role of saliva in maintaining oral health: a review. *International Journal of Contemporary Dental and Medical Reviews*, 2017, article no. 011217.
11. Arunkumar S., Arunkumar J. S., Burde K.N., Shakunthala G.K. Developments in diagnostic applications of saliva in oral and systemic diseases – a comprehensive review. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 2014, vol. 3, no. 3, pp. 372-387.
12. Chebotarev A., Dubovyi V., Barbalat D., Guzenko E., Bevziuk K., Snigur D. Kinetic-spectrophotometric determination of thiocyanate in human saliva based on Landolt effect in presence of astraflaxine FF. *Acta Chimica Slovenica*, 2019, vol. 66, pp. 163-167.
13. Pupyshev A.A., *Atomno-absorbtsionnyi spektral'nyi analiz* [Atomic absorption spectral analysis]. Tekhnosfera Publishers, Moscow, 2009. 784 p. (in Russian).