

**Особенности определения ванадия в моче  
методом ICP – MS с октопольной  
реакционной ячейкой**

**Гилева Ольга Владимировна**

*Научный руководитель:  
д.б.н. Уланова Т.С.*

**Пермь 2014**

# Ванадий – условно эссенциальный элемент

## *Биохимические свойства*

- Инсулин – миметические свойства (лечение диабета)
- Биологически активная добавка в спортивном питании
- Влияние на активность ферментов (стимуляция протеинтирозинкиназы, ингибирование фосфатазы)

## *Токсические свойства*

Ингаляционный путь поступления (I класс опасности)	Пероральный путь поступления (III класс опасности)
<p><b><i>Острое воздействие:</i></b> поражение дыхательной, сердечно - сосудистой систем, печени и почек; эффект «зеленого языка»</p>	<p><b><i>Острое воздействие:</i></b> Гастроэнтеральные эффекты (тошнота, рвота, спазмы, диарея)</p>
<p><b><i>Хроническое воздействие:</i></b> ринит, сухой кашель, общая слабость, функциональные нарушения со стороны сердечно-сосудистой и вегетативной нервной системы, а также биохимические сдвиги</p>	<p><b><i>Хроническое воздействие:</i></b> функциональные нарушения со стороны печени, почек, желудочно-кишечного тракта</p>
<p><b><i>Биомаркеры экспозиции:</i></b> кровь, волосы, ногти (хроническая экспозиция), моча (острая интоксикация)</p>	<p><b><i>Биомаркеры экспозиции:</i></b> моча, кровь (острая интоксикация)</p>

# Референтные, «нормальные», определяемые содержания ванадия в образцах мочи

<i>Исследуемая группа</i>	<i>Метод определения</i>	<i>Содержание ванадия в моче, мкг/л</i>	<i>Литературный источник</i>
Взрослое население	GF - AAS	0,06 – 0,87	Ishida O., 1989
Взрослые жители Германии	ORS – ICP - MS	<b>0,056 – 0,19</b>	Heitland P., 2004
Взрослые жители США	ORS – ICP - MS	0,01 – 0,17	Nixon D.E., 2002
Взрослые жители Испании	ORS – ICP - MS	<b>0.003</b>	Sarmiento-González A., 2008
Взрослые жители Индии	ORS – ICP - MS	2.0	Verma D., 2012
Взрослые жители Чехии	RNAA	0.66-2.53	Kucera J., 1994
Детское население Рима	HR-ICP-MS	0.163-0.679	Alimonti A., 2000
Взрослые жители Хорватии	ICP-MS	<b>22.87 ± 11.86</b>	Jergović M., 2010
Детское население Канады	ICP-MS	0,13-0,16	Canada (CHMS), 2013
«Нормальное» содержание	-	0.77-2.4	Лившиц В.М., 2001
«Нормальное» содержание	-	0,24-31,0	WHO (Geneva), 2001
Референтное содержание	ICP-AES	0.2-10	Caroli S., 1994
«Нормальное» содержание	-	15,0	Калетина Н.И., 2008
Референтное содержание	-	0,08-0,24	Тиц Н.У., 2003
«Нормальное» содержание	-	<0,2-1,0(2,0)	Скальный А.В., 2004
«Нормальное» содержание	-	<b>100</b>	Назаров, Макаренко, 1994

**Цель** – установление методических особенностей определения ванадия методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS) в биосубстратах (моча) человека для последующей разработки методических указаний и установления регионального фонового уровня.

**Задачи:**

1. Установить и минимизировать матричное влияние
  2. Установить величину интерференционного наложения и нивелировать его влияние
  3. Установить оптимальные параметры работы прибора в реакционном режиме и скорость потока газа-реактанта
  4. Установить оптимальный элемент внутреннего сравнения
  5. Отработать оптимальную схему подготовки образцов мочи с учетом всех мешающих влияний
  6. На базе разработанного метода установить региональный фоновый уровень в моче детского населения Пермского края.
- 
-

## Материалы и методы

- Масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой Agilent 7500сх с октопольной реакционной/столкновительной ячейкой (USA)
- В качестве газа – реактанта гелий He
- Настрочный раствор Tuning Solution, с концентрацией Li, Mg, Y, Ce, Tl, Co 1 мкг/л
- Комплексный внутренний стандарт Bi<sup>209</sup>, Ge<sup>72</sup>, In<sup>115</sup>, Li<sup>6</sup>, Sc<sup>45</sup>, Tb<sup>159</sup>, Y<sup>89</sup>
- Комплексный калибровочный раствор Multi-element Calibration Standard 2A (USA) с концентрацией 10 мг/л
- Особо чистая азотная кислота (Nitric Acid, 30702, Sigma - Aldrich)
- Стандартные образцы мочи Seronorm Urina (Norway)

# Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS)

- Низкий предел обнаружения ( $LOD = 10^{-9} - 10^{-12}$  г/дм<sup>3</sup>)
- Высокая селективность
- Высокая воспроизводимость
- Широкий диапазон определяемых концентраций
- Низкий уровень инструментального измерительного фона прибора
- Низкий расход анализируемых растворов
- Минимальный объем образца, необходимого для анализа
- Высокая автоматизация
- Эффективное программное обеспечение измерительных операций
- Высокая производительность и информативность метода

# Матричное влияние

## Обоснование выбора минеральной кислоты:

- Серная кислота  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : интерференции от  $^{34}\text{S}^{16}\text{OH}^+$ ,  $^{33}\text{S}^{18}\text{O}^+$ ,  $^{36}\text{S}^{15}\text{N}^+$ , затруднительно сгорает в плазме
  - Соляная кислота  $\text{HCl}$ : интерференции от  $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$
- Азотная кислота  $\text{HNO}_3$ : простота масс - спектра, хорошая растворимость ванадия и др. элементов

## Обоснование способа разложения матрицы образцов мочи:

- Высокий солевой состав образцов мочи

### Кислотное разбавление

0,5 см<sup>3</sup> пробы смешивали с 0,05 см<sup>3</sup> комплексного внутреннего стандарта с концентрацией элементов 100 мкг/л и доводили объем до 5 см<sup>3</sup> в виалах для последующего масс - спектрометрического анализа.

## Обоснование выбора $^{72}\text{Ge}$ в качестве элемента внутреннего сравнения (IS):

- близость масс и потенциала ионизации IS и анализируемого элемента (потенциал ионизации ванадия 6,74 эВ )

Комплексный внутренний стандарт  $^{209}\text{Bi}$ ,  $^{73}\text{Ge}$ ,  $^{115}\text{In}$ ,  $^6\text{Li}$ ,  $^{45}\text{Sc}$ ,  $^{159}\text{Tb}$ ,  $^{89}\text{Y}$

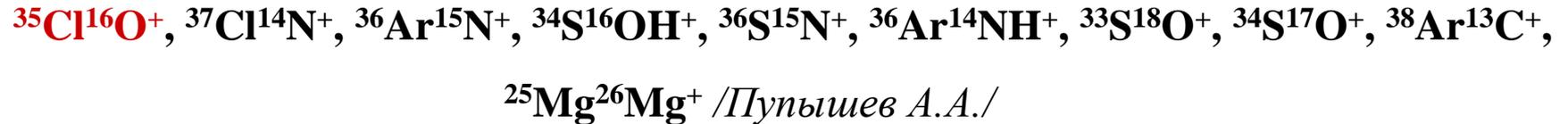
$^{45}\text{Sc}$ : потенциал ионизации 6,54 эВ, один изотоп, интерференции от  $^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2\text{H}^+$ ,  $^{29}\text{Si}^{16}\text{O}^+$ ,  $^{28}\text{Si}^{16}\text{OH}^+$ ,  
 $^{14}\text{N}_2^{16}\text{OH}^+$

$^{73}\text{Ge}$ : потенциал ионизации 7,88 эВ, отсутствие интерференций

$^{89}\text{Y}$ : потенциал ионизации 89 эВ, интерференции от  $^{73}\text{Ge}^{15}\text{O}^+$

# Интерференционное влияние

## Возможные интерференционные наложения при определении $^{51}\text{V}$ :



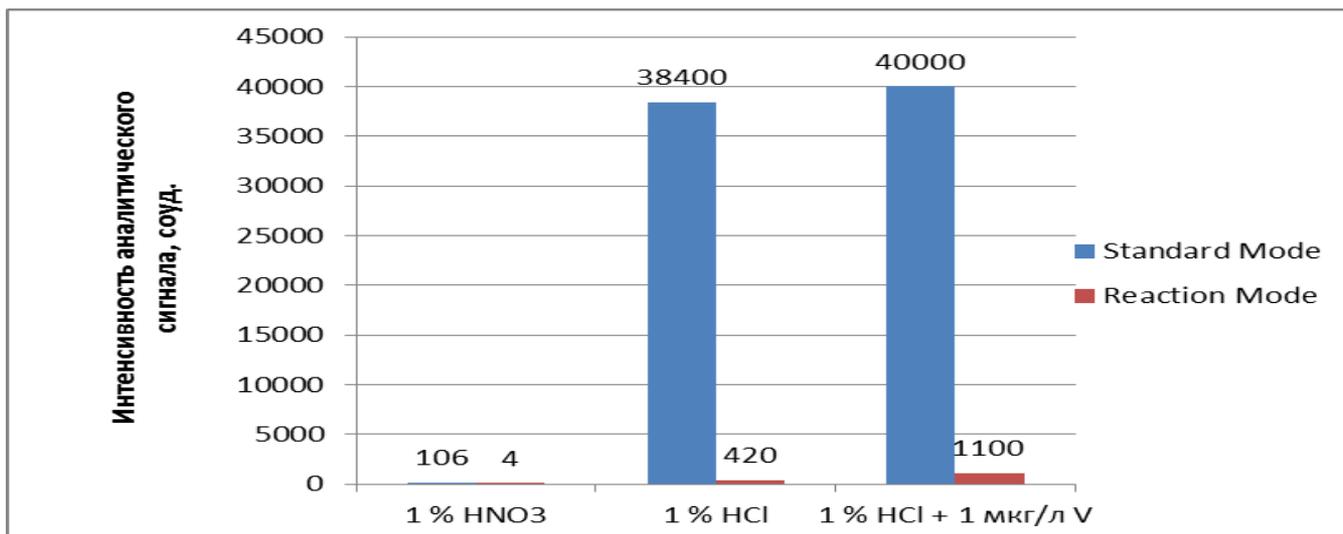
## Способы устранения наложений:

- Использование свободного от интерференции изотопа:  $^{50}\text{V}$  подвержен наложению от  $^{35}\text{Cl}^{15}\text{N}^+$ , его процентное содержание составляет 0,25% от общего, погрешность 100-300%;
- Использование расчетных методов или интерференционных уравнений: эффективность 1 – 2 порядка, пригодна для массового анализа объектов среды обитания, погрешность 40%.

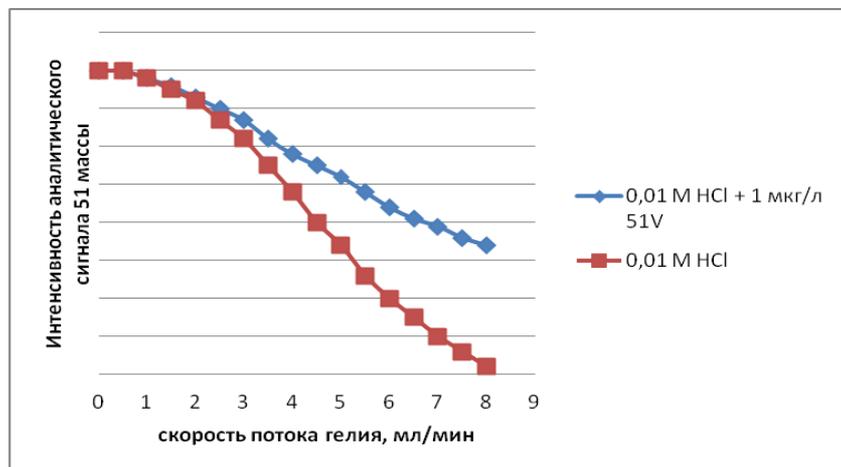
$$^{51}\text{V}_{\text{corr}} = ^{51}\text{V} - \left[ \frac{^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}}{^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}} \right] \times \left\{ ^{37}\text{Cl}^{16}\text{O} - \left[ \frac{^{53}\text{Cr}}{^{52}\text{Cr}} \right] \times ^{52}\text{Cr} \right\}$$

- Использование октопольной столкновительной/реакционной ячейки (ORS): эффективность 4 – 6 порядков, отвечает требованиям для анализа биосубстратов.

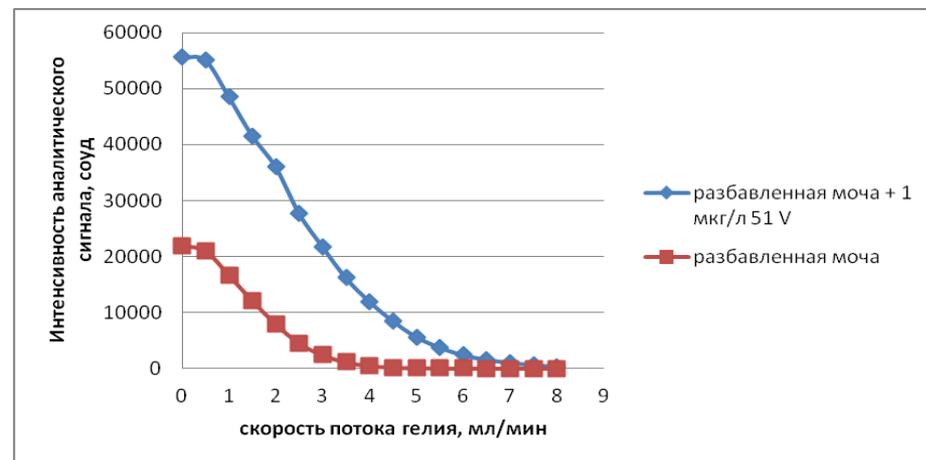
# Установление параметров работы реакционного режима прибора при интерференционном наложении



Интенсивность аналитического сигнала массы 51 в 1% азотной, соляной кислотах и растворе 1 мкг/л ионов ванадия в солянокислом растворе со скоростью потока гелия 4,5 мл/мин.



Зависимость аналитических сигналов от скорости потока гелия.



Интенсивность аналитических сигналов ионов ванадия в растворе разбавленной мочи и приготовленном на нем стандартном образце ванадия с концентрацией 1 мкг/л.

# Методические особенности определения ванадия в образцах мочи

- Разбавление 1% азотной кислотой в 10 раз (фильтрация через мембранные фильтры 0,24 мм)
- Использование  $^{72}\text{Ge}$  в качестве элемента внутреннего сравнения
- Реакционный режим работы прибора с октопольной столкновительной/реакционной ячейкой
- Скорость потока газа-реактанта 5 мл/мин

*Аттестованные и найденные средние значения содержания ванадия в стандартных образцах мочи Seronorm (Norway).*

Уровень	Аттестованное значение/среднее, мкг/л	Найденное среднее значение, мкг/л	Погрешность от среднего, %
(n = 20)	22.4 – 28.0 / 25.2	26.34	4.5

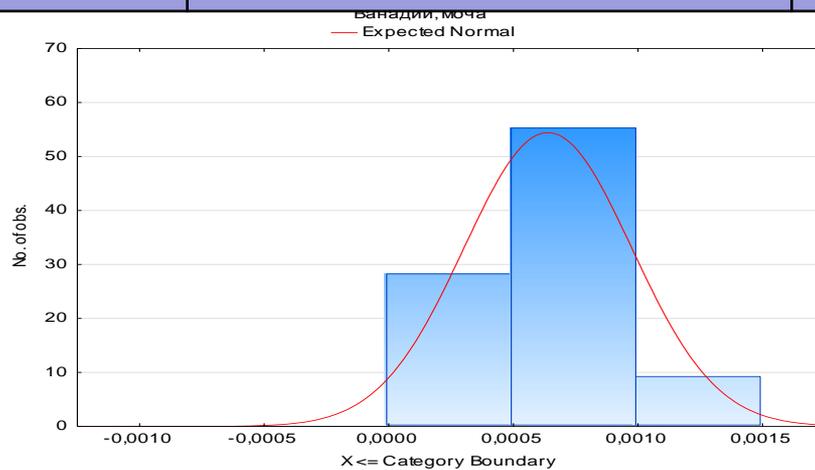
Отработанные методические приемы прошли метрологическую аттестацию, утверждены в Федеральном Реестре методик выполнения измерений (ФР.1.31.2014.17064)

# Обоснование региональных фоновых уровней содержания ванадия в биосредах (моча) детского населения (Пермский край)

**0,64±0,07 мкг/л**

(N=92; X=0,64; S=0,34; МФН=0,57; МФНВ=0,71)

Исследуемая территория	Среднее содержание ванадия	
	в атмосферном воздухе, мг/м <sup>3</sup>	в моче, мкг/л
пос. Б. Соснова	$0,1 \cdot 10^{-5} \pm 0,2 \cdot 10^{-7}$	0,63±0,49
пос. Сива	$0,1 \cdot 10^{-5} \pm 0,2 \cdot 10^{-7}$	0,72±0,3
Среднее значение	$0,1 \cdot 10^{-5} \pm 0,2 \cdot 10^{-7}$	0,67±0,35



Гистограмма распределения показателей содержания ванадия в моче

**Нормальное распределение**

# Референтные, «нормальные», определяемые содержания ванадия в образцах мочи

<i>Исследуемая группа</i>	<i>Метод определения</i>	<i>Содержание ванадия в моче, мкг/л</i>	<i>Литературный источник</i>
Взрослое население	GF - AAS	0,06 – 0,87	Ishida O., 1989
Взрослые жители Германии	ORS – ICP - MS	<b>0,056 – 0,19</b>	Heitland P., 2004
Взрослые жители США	ORS – ICP - MS	0,01 – 0,17	Nixon D.E., 2002
Взрослые жители Испании	ORS – ICP - MS	<b>0.003</b>	Sarmiento-González A., 2008
Взрослые жители Индии	ORS – ICP - MS	2.0	Verma D., 2012
Взрослые жители Чехии	RNAA	0.66-2.53	Kucera J., 1994
Детское население Рима	HR-ICP-MS	0.163-0.679	Alimonti A., 2000
Взрослые жители Хорватии	ICP-MS	<b>22.87 ± 11.86</b>	Jergović M., 2010
Детское население Канады	ICP-MS	0,13-0,16	Canada (CHMS), 2013
«Нормальное» содержание	-	0.77-2.4	Лившиц В.М., 2001
«Нормальное» содержание	-	0,24-31,0	WHO (Geneva), 2001
Референтное содержание	ICP-AES	0.2-10	Caroli S., 1994
«Нормальное» содержание	-	15,0	Калетина Н.И., 2008
Референтное содержание	-	0,08-0,24	Тиц Н.У., 2003
«Нормальное» содержание	-	<0,2-1,0(2,0)	Скальный А.В., 2004
«Нормальное» содержание	-	<b>100</b>	Назаров, Макаренко, 1994
Региональный фоновый уровень в моче детского населения	ORS-ICP-MS	<b>0.64±0.07</b>	Уланова Т.С., Гилева О.В., 2013

## Выводы:

- Отработаны параметры преданалитической подготовки проб мочи, установлен оптимальный элемент внутреннего сравнения  $^{72}\text{Ge}$  (минимизация матричного эффекта);
- Отработаны параметры работы прибора в реакционном режиме, установлена оптимальная скорость потока гелия 5,0 мл/мин (устранение интерференционного наложения);
- Использование масс – спектрометрии с индуктивно связанной плазмой с октопольной реакционной/столкновительной ячейкой позволяет избавиться от интерференционных и матричных влияний и селективно определять ванадий в солевых растворах с низким значением погрешности определения;
- Установлен региональный фоновый уровень ванадия в моче детского населения Пермского края, который составляет  $0,00054 \pm 0,0007$  мг/дм<sup>3</sup>

Благодарю за внимание!