

© Т.С. УЛАНОВА, Е.В. СТЕННО, Г.А. ВЕЙХМАН,
Ю.В. ШАРДАКОВА, М.А. БАКАНИНА

ulanova@fcrisk.ru, stenno@fcrisk.ru, veikhman_ga@mail.ru, agapemar@mail.ru

УДК 502.22:504.5:614.1:54

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИЧЕСКИХ ПРИЕМОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ВАНАДИЯ В АТМОСФЕРНОМ ВОЗДУХЕ И БИОСФЕРАХ
МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ
АРГОНОВОЙ ПЛАЗМОЙ**

АННОТАЦИЯ. Приведены параметры масс-спектрометрического определения ванадия в атмосферном воздухе населенных мест и цельной крови детей дошкольного возраста; разработан метод определения ванадия в атмосферном воздухе на уровне референтной концентрации.

SUMMARY. The article presents parameters of mass spectrometric determination of vanadium in urban ambient air and whole blood samples from preschool children, and proposes a method for determining vanadium in ambient air at reference concentration level.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА. Масс-спектрометрический метод, индуктивно связанная плазма, ванадий, атмосферный воздух населенных мест, дети, кровь.

KEY WORDS. Mass spectrometry, inductively coupled plasma, vanadium, urban ambient air, children, blood.

В атмосферный воздух г. Чусовой основная масса загрязняющих веществ поступает от крупнейшего в России Чусовского металлургического завода (далее — ОАО ЧМЗ). В выбросах наиболее опасными соединениями, в том числе и по массе, являются соединения ванадия, марганца и оксида углерода. Все три загрязняющих вещества выбрасываются ОАО ЧМЗ в непосредственной близости к жилым кварталам города, создавая риск для здоровья населения. Кроме того, г. Чусовой занимает первое место среди административных территорий Пермского края по выбросам соединений ванадия и марганца. Комплексные исследования состояния атмосферного воздуха жилой зоны, питьевой воды, а также биосред детского населения г. Чусовой проведены в 1996-2000 гг. и опубликованы в работах [1], [2]. За прошедшее десятилетие экологическая ситуация в регионе практически не изменилась. Основой контроля качества атмосферного воздуха являются государственные стандарты и утвержденные методические указания по определению химических соединений, загрязняющих атмосферный воздух. Официально используемый в настоящее время фотометрический метод определения ванадия в атмосферном воздухе РД 52 04.186-89 [3] позволяет определять ванадий в диапазоне концентраций 0,001-0,01 мг/м³ с погрешностью ±25%. Вместе с тем метод недостаточно чувствителен для определения соединений ванадия на уровне референтных концентраций [4]. Масс-спектральный анализ с индуктивно связанной плазмой назван в качестве рекомендованного

метода в «Проекте стратегии мониторинга и программы измерений ЕМЕП на 2004-2009 годы» [5]. В настоящее время в России нет утвержденной методики использования данного метода для анализа атмосферного воздуха населенных мест.

Актуальность данной проблемы определила цель настоящих исследований: разработка высокочувствительного масс-спектрометрического метода для определения ванадия в атмосферном воздухе, изучение влияния фактических уровней содержания диванадия пентоксида в атмосферном воздухе г. Чусовой на состав биосред детей дошкольного возраста, проживающих в зоне антропогенного воздействия.

Материалы и методы

Анализ проб атмосферного воздуха осуществлялся на масс-спектрометре с индуктивно-связанной аргонной плазмой Agilent 7500сх (США). Для введения проб использовалась двухканальная распылительная камера Скотта. Скорость подачи образца в распылительную камеру составляет 0,4 см³/мин. Масс-спектрометр оснащен плазменной горелкой Fassel с диаметром инжекторной трубки 2,5 мм. Максимальная скорость потока аргона составляет 20 дм³/мин., давление в канале подводки газа 700±20 кПа, T плазмы=8000-10000 К. Автоматизация процесса проведения анализа обеспечивается автосэмплером марки G3160В (Германия). Масс-спектрометр готовят к работе в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора [6]. С целью получения наиболее высокого отношения сигнал-фон использовали настроечный раствор 7Li, 59Co, 89Y, и 205Tl с концентрацией 1 мкг/дм³ для каждого элемента. Скорость работы детектора осуществляется ≥ 100 мкс на 1 ион. Внутренний стандарт — раствор эрбия с концентрацией 1мг/дм³ (G 1820-60372,USA).

Особые требования уделялись подготовке посуды для приготовления растворов. Новую одноразовую посуду мыли в дистиллированной воде в ультразвуковой мойке Elmasonic S 100Н (Германия), хранили до использования в тефлоновых или полиэтиленовых емкостях в деионизованной воде. Фторопластовые стаканы для микроволновой системы пробоподготовки, кварцевую и стеклянную посуду отмывали в ультразвуковой мойке Elmasonic S 100Н при температуре 45 °С—50 °С.

Отбор проб для определения ванадия в атмосферном воздухе осуществляли в соответствии с ГОСТ 17.2.3.01-86. Для определения разовой концентрации ванадия исследуемый воздух аспирировали через аэрозольные фильтры АФА-ХП-20 или АФА-ВП-10 (Россия) в течение 20-30 мин. аспиратором ПУ-3Э /12 (Россия) с отбором не менее 1 м³ на каждый фильтр [7]. Озоление фильтров проводили в муфельной печи ПДП-18М (Россия) в кварцевых стаканах с добавлением раствора внутреннего стандарта в течение 3,5 ч при температуре 450-500°С. Для анализа остаток после охлаждения растворяли в 10 см³ 1% азотной кислоты.

Для озоления фильтров возможно использование микроволновой системы МС-6 (Россия). Экспонированные фильтры помещали во фторопластовые стаканы, вносили 0,1 см³ внутреннего стандарта с массовой концентрацией Ег 1мг/дм³, добавляли 5 см³ концентрированной HNO₃ (плотность 1,415 г/см³) и минерализовали. Минерализованную пробу переносили в мерную полипропиленовую про-

бирку вместимостью 15 см³, доводили объем пробы до 10 см³ деионизованной водой. Одновременно с анализируемыми пробами готовили 2-3 холостые пробы, состоящие из неэкспонированных фильтров из той же партии. В холостых и исследуемых пробах, а также в градуировочных растворах концентрация внутреннего стандарта должна быть одинакова. Перед началом анализа проб измеряли 1-2 свежеприготовленных раствора стандартного образца. Для выявления и учета возможных изменений чувствительности прибора повторные измерения растворов стандартов проводили через 15-20 образцов. Замер проводили с учетом внесенного внутреннего стандарта, используя программное обеспечение масс-спектрометра. При измерении растворов со значением более 50 мкг/дм³ рекомендуется разбавление пробы или уменьшение периода интегрирования. Для определения предела обнаружения измеряли деионизованную воду с внесенным раствором внутреннего стандарта. Градуировочные растворы были приготовлены из раствора ГСО-7267-96 для ионов ванадия (Россия) с массовыми концентрациями 0; 0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 50,0 мкг/дм³. Для минерализации образцов и приготовления градуировочных растворов использовали азотную кислоту (18-4), ос.ч, ГОСТ 11125-84 (Россия). Все растворы разбавляли деионизованной водой, электропроводимостью 18,2 МΩ/см, очищенной с использованием системы Milli-Q-Integral (Millipore SAS, France). При разработке методики проводили анализ фильтров с нанесенными растворами стандартного образца ванадия в нескольких диапазонах концентраций для учета ошибки при подготовке и разбавлении проб. Не обнаружено достоверных различий между результатами при разбавлении раствора в 100 и 1000 раз ($p \geq 0,05$), погрешность определения составила от 0,5 до 10%.

Обеспечение достоверности измерений в пределах лаборатории проводили путем проверки приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях повторяемости, промежуточной прецизионности, воспроизводимости, оперативного контроля процедуры измерений и контроля стабильности результатов измерений в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-6 и РМГ 76-2004. (Методика аттестована в Уральском научно-исследовательском институте метрологии (г. Екатеринбург), свидетельство № 223.1.0276/01.00258/2010, регистрационный код методики по Федеральному реестру Ф.Р. 1.31.2011.09887)

Разработанная методика позволяет определять разовые и среднесуточные массовые концентрации ванадия в атмосферном воздухе методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой (ICP-MS) в диапазоне 0,000005—0,02 мг/м³, при отборе 1 м³ воздуха с погрешностью определения 21% при $p=0,95$.

Результаты и обсуждение.

Исследования атмосферного воздуха проводили в г. Чусовой Пермского края (50 проб) на территории детского сада № 9, расположенного в зоне влияния металлургического предприятия ОАО ЧМЗ. Среднее содержание ванадия в пересчете на пентоксид ванадия составило $40,7 \cdot 10^{-5}$ мг/м³. На контрольной территории (пос. Частые), расположенной вне зоны влияния промышленных производств, содержание диванадия пентоксида составило $0,2 \cdot 10^{-5}$ мг/м³ (табл. 1).

Несмотря на то, что ПДК_{с.с.} [8] в г. Чусовой не была превышена, наблюдается достоверное превышение содержание диванадия пентоксида ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Референтная концентрация при хроническом ингаляционном воздействии диванадия пентоксида была превышена в 5,8 раз.

Таблица 1

Результаты исследования образцов атмосферного воздуха, мг/м³

Соединение	Атмосферный воздух			
	ПДК _{с.с.} , мг/м ³	RfC, мг/м ³	п. Частые (контроль)	г. Чусовой
Диванадий пентоксид (V ₂ O ₅)	0,002	7u10 ⁻⁵	0,2u10 ⁻⁵ ±4u10 ⁻⁷	40,7u10 ⁻⁵ ±8,1u10 ⁻⁵

Одним из подходов к оценке степени воздействия факторов среды обитания на состояние здоровья является определение химических соединений в биосредах населения, проживающего на территории техногенного воздействия [9]. В этой связи на территории г. Чусовой одновременно с исследованием проб воздуха определено содержание ванадия в образцах крови детей. Для сравнительной оценки степени неблагоприятного воздействия одновременно с группой обследованных детей, проживающих на территории техногенного воздействия (г. Чусовой), была обследована группа детей, проживающих на контрольной территории, вне зоны техногенного воздействия (п. Частые Пермского края).

Результаты представляли как среднюю ± ошибка средней ($M \pm m$) в мкг/мл. Статистическую достоверность различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Различия при $p \leq 0,05$ считали достоверно значимыми. Для контроля правильности результатов анализа использовали стандартные образцы крови SERONORM L2 (Норвегия).

Следует заметить, что нормальные физиологические уровни содержания ванадия в крови, приводимые в литературе, достаточно противоречивы. Так, референтный уровень по Лифшицу [10] составляет $0,008 \pm 0,00004$ мкг/мл, по Тицу [11] $0,00006 - 0,00087$ мкг/мл, по Эмсли [12] $< 0,0002$ мкг/мл. Использовать данные величины как критериальные достаточно сложно, так как разница значений достигает нескольких порядков. Содержание ванадия в крови определили методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргонной плазмой согласно МУК 4.1.1483-03 [13]. Данная методика позволяет определять ванадий в диапазоне концентраций $0,0005 - 0,5$ мкг/мл с погрешностью от 20-40% при $p = 0,95$. Отбор пробы крови производили из локтевой вены в химически чистые пробирки. В качестве консерванта использовали раствор гепарина для инъекций концентрации 5000МЕ/мл (ОАО «Синтез», г. Курган). Калибровочные растворы были приготовлены из раствора ГСО-7267-96 для ионов ванадия в диапазоне концентраций $0,01 - 1,0$ мкг/дм³.

Известно, что при анализе биосред методом ICP-MS существуют ограничения на содержание органических соединений в пробе, поскольку не полностью сгоревший в плазме углерод осаждается на горелке, распылителе и на деталях ионной оптики. Кроме того, растворы с высокой концентрацией матричных компонентов не рекомендуется вводить в плазму из-за изменения температуры плазменного факела и вероятности засорения узкого канала распылителя. Использовали два способа пробоподготовки — микроволновое разложение с использованием системы МС-6 (Россия) и кислотное растворение

1% раствором HNO_3 в деионизованной воде. Микроволновый способ основан на полном разложении (минерализации) органической матрицы веществ в кислой среде путем ее окисления под действием температуры и добавок химических окислителей в герметичных контейнерах при повышенном давлении. В каждый фторопластовый стакан помещали 1 см^3 крови, добавляли 5 см^3 концентрированной азотной кислоты, затем 1 см^3 концентрированной перекиси водорода (ос.ч. 8-4, ТУ 6-02-570-75) и оставляли на 15-20 минут. После стаканы герметично закрывали, помещали в турель и устанавливали в микроволновую камеру. Пробы подвергали разложению по соответствующему режиму в течение 45 минут. После полного остывания пробы переносили в мерные пробирки и доводили объем до 10 см^3 деионизованной водой. Параллельно для каждой серии анализов готовили две холостые пробы, которые измеряли наряду с реальными пробами. Для выравнивания кислотности в пробах и в растворах стандартных образцов пробы разбавляли еще в 10 раз. Поскольку не обнаружено достоверных различий при анализе проб с микроволновым разложением и кислотном разбавлении 1% раствором HNO_3 в 100 раз, в дальнейшем использовался второй вариант.

При обследовании группы детей ($n=97$) дошкольного возраста г. Чусовой обнаружено среднее содержание ванадия в крови $0,00305 \pm 0,00014 \text{ мкг/см}^3$. Содержание ванадия в крови детей той же возрастной группы ($n=35$) из п. Частые (контроль) составляет $0,00175 \pm 0,0004 \text{ мкг/см}^3$. Достоверность различий составила $p \leq 0,0001$. Таким образом, можно утверждать, что превышение референтных уровней диванадия пентоксида в атмосферном воздухе при хроническом ингаляционном воздействии в г. Чусовой, вызывает достоверное превышение содержания ванадия в цельной крови детей, постоянно проживающих на данной территории.

Выводы

Разработана методика определения разовых и среднесуточных массовых концентраций ванадия в атмосферном воздухе методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргонной плазмой в диапазоне $0,05$ до 50 мкг/м^3 , при отборе 1 м^3 воздуха с погрешностью определения 21 % при $p=0,95$, позволяющая снизить предел обнаружения ванадия до уровня референтной концентрации. Не обнаружено превышение ПДК_{с.с.} диванадия пентоксида в атмосферном воздухе жилой зоны г. Чусовой, однако наблюдается достоверное превышение в 5,8 раз референтной концентрации.

Превышение референтных уровней диванадия пентоксида в атмосферном воздухе в г. Чусовой вызывает достоверное превышение содержания ванадия в крови детей дошкольного возраста.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зайцева Н.В., Уланова Т.С., Плахова Л.В. и др. Влияние полиметаллических загрязнений объектов окружающей среды на изменение микроэлементного состава биосред у детей // Гигиена и санитария. 2004. №4. С. 11-15.
2. Уланова Т.С. Научно-методические основы химико-аналитического обеспечения гигиенических и медико-биологических исследований в экологии человека: Автореф. дисс. д-ра биол. наук. Москва, 2006. 50 с.
3. Руководство по контролю загрязнения атмосферы. РД 52.04.186-89. М.: Минздрав СССР, 1991. 693 с.

4. Руководство по оценке риска населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. Р 2.1.10.1920-04. М: Минздрав России, 2004. 143 с.
5. Руководство ЕМЕП по отбору проб и химическому анализу. М, 2004. 270 с.
6. Инструкция по эксплуатации системы Agilent 7500 ICP-MS ChemStation (G3272B). 2007. 450с.
7. Дорогова В.Б. Об отборе проб воздуха для анализа загрязняющих веществ// Экология человека. 2010. № 3. С.16-18.
8. Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест. Гигиенические нормативы. ГН 2.1.6.1338-03. М.: Минздрав России. 2003.
9. Уланова Т.С. // Тез. докл. конф. «Гигиенические и медико-профилактические технологии управления рисками здоровью населения в промышленно развитых регионах». ФГУН «ФНЦ МПТ УРЗН» Роспотребнадзора. Пермь, 2010.С.62-67.
10. Сидельникова В.И., Лифшиц В.М. Лабораторные тесты у здоровых людей (референтные пределы). М.: Триада-Х, 2004. 128 с.
11. Тиц Н.У. Клиническое руководство по лабораторным тестам. Пер. с англ. М.: Юнимед-пресс, 2003. 960 с.
12. Эмсли Д. Элементы. Пер. с англ. М.: Мир, 1993. 256с.
13. Методы контроля. Химические факторы. МУК 4.1.1483-03. Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, препаратах и биологически активных добавках методом масс-спектромерии с индуктивно связанной аргоновой плазмой. М.: Минздрав России, 2003. 29с.