

# МЕТОДЫ

## КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ЭЛЕМЕНТНОМУ АНАЛИЗУ ВОЛОС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ ИСП-АЭС И ИСП-МС

## MULTIPRONGED APPROACH TO ELEMENTAL HAIR ANALYSIS BY ICP-AES AND ICP-MS METHODS

Е.П. Серебрянский<sup>1</sup>, А.В. Скальный<sup>1</sup>, О.Ю. Чечеватова<sup>2</sup>,  
М.Г. Скальная<sup>1</sup>, В.А. Демидов<sup>1</sup>  
E.P. Serebryansky<sup>1</sup>, A.V. Skalny<sup>1</sup>, O.Yu. Chechevatova<sup>2</sup>,  
M.G. Skalnaya<sup>1</sup>, V.A. Demidov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> АНО «Центр Биотической Медицины», а/я 56, Москва 125047 Россия.

<sup>2</sup> Федеральный центр Госсанэпиднадзора РФ, Москва, Россия.

<sup>1</sup> ANO “Center for Biotic Medicine”, P.O. Box 56, Moscow 125047 Russia.

<sup>2</sup> Russian Federal Sanitary Epidemiological Supervision Center, Moscow, Russia.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ИСП-АЭС, ИСП-МС, анализ волос.

KEY WORDS: ICP-AES, ICP-MS, hair analysis.

**РЕЗЮМЕ:** Разработана комплексная методика быстрого количественного элементного анализа биологических образцов, фармацевтических препаратов, пищевых продуктов, природных и сточных вод, реализующая совместное применение методов ИСП-АЭС и ИСП-МС для определения различных групп элементов в одном образце. Матричные элементы, в первую очередь Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Fe, Zn (до 15–20 элементов) надежно и быстро определяются методом ИСП-АЭС, а все остальные за исключением H, C, O, F, Cl и благородных газов, анализируются более мощным методом ИСП-МС, чувствительность которого позволяет количественно определять до 50–60 элементов в биологических образцах. Применение двух методов сокращает время, необходимое на анализ одного образца, дает большую гибкость при работе с неизвестными матрицами, и самое главное, обеспечивает по ключевым элементам перекрестную проверку результатов, повышая их надежность.

**ABSTRACT:** We have applied the combined approach to the routine elemental analysis of biological, pharmaceutical, nutraceutical objects as well as fresh and waste waters using the complex ICP-AES + ICP-MS for both major and trace element groups. Matrix elements (up to 15–20), such as Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Fe, Zn in biological samples can be determined by ICP-AES while the rest elements except of H, C, O, F, Cl measured by more powerful ICP-MS method, which is able to quantitate up to 50–60 elements, depending on

element/isotope abundances. The application of two methods provides more flexibility when working with unknown matrices and provides cross-checking to improve data reliability and also enhances sample throughput.

### Введение

Методы эмиссионного спектрального анализа (ИСП-АЭС) и масс-спектрального анализа с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) широко используются во всем мире для высокопроизводительного многоэлементного анализа самых различных образцов (Современные методы анализа..., 1999). Высокая точность и воспроизводимость результатов, умеренная чувствительность, ограничивающая реальный круг определяемых элементов, и более низкая себестоимость характерны для ИСП-АЭС метода, в то время как исключительная чувствительность и широкий круг определяемых элементов — преимущества ИСП-МС.

Применение ИСП-МС позволило приблизиться и к решению задачи анализа больших партий разнородных образцов на большинство элементов с пределами обнаружения и диапазоном определяемых концентраций адекватными распространенности элементов в большинстве биомедицинских объектов. Надежность современного оборудования, простота и точность калибровки по общедоступным стандартным одно- или многоэлементным растворам, относительная свобода от взаимных физических и химических влияний при анализе — несомнен-

ные достоинства метода ИСП-МС. Существует обширная зарубежная литература по использованию этого метода для элементного и изотопного анализа в биологии, медицине, биогеохимии и смежных областях знаний. Можно заметить, что высокая стоимость подобных приборов пока тормозит широкое внедрение метода ИСП-МС в практическую деятельность отечественных санитарно-гигиенических и экологических лабораторий. Метод ИСП-МС обладает высокой чувствительностью и производительностью и позволяет с хорошей точностью определять до 80 элементов за время, не превышающее 2–3 мин.

### Материалы и методы

Для проведения массовых диагностических исследований на базе Центра Биотической Медицины под руководством д.м.н. Скального А.В. создана испытательная химико-аналитическая лаборатория. Лаборатория аккредитована при Федеральном центре Госсанэпиднадзора. Область аккредитации лаборатории включает анализ практически всех биологических объектов, фармацевтических препаратов и добавок к пище, а также природных и сточных вод. Основной испытуемый материал лаборатории — волосы пациентов. В последнее время исследование волос привлекают все большее внимание для выявления состояния обмена микроэлементов в организме и токсического воздействия отдельных токсичных металлов. Показано, что содержание микроэлементов в волосах отражает микроэлементный статус организма в целом, и пробы волос являются интегральным показателем минерального обмена (Скальный, 2000). В составе лаборатории находятся два прибора для атомно-эмиссионного (Optima 2000DV, PerkinElmer Corp.) и для масс-спектрального (ELAN 9000, PerkinElmer Sciex Corp.) анализа с индуктивно-связанной плазмой. Поскольку в нормативно-методической базе Госстандарта и Федерального центра Госсанэпиднадзора на момент создания лаборатории отсутствовали методики многоэлементного анализа биологических объектов с применением методов ИСП-АЭС и ИСП-МС, нами были разработаны и внедрены соответствующие методические рекомендации (Методика определения..., 2003).

### Результаты исследований

В экспериментальных целях оба спектрометра были объединены в систему с одним управляющим компьютером. Управляющие программные пакеты спектрометров при этом работают независимо друг от друга и не мешая друг другу. Система в целом обслуживается одним оператором. Подобная схема позволила сэкономить материальные, временные и трудовые затраты на анализ и обслуживание спектрометров. Фактически на базе двух методов создана единая взаимосвязанная аналитическая система, позволяющая проводить элементный анализ самых различных элементов в широком диапазоне концентраций, с высокой достоверностью и скоростью.

Поскольку оба метода ИСП-АЭС и ИСП-МС обладают общими принципами градуировки и проведения измерений, то для работы нами использовалась одна и та же схема анализа. Порядок проведения измерений выглядит следующим образом: сначала проводится калибровка спектрометра с использованием холостой пробы и серии калибровочных растворов, затем анализируются стандартный аттестованный образец, пробы-дубликаты и внутрилабораторные стандарты, затем проводятся измерения образцов. Для компенсации возможного дрейфа рабочих характеристик приборов за время, превышающее 1–2 часа работы, между 25–30 измерениями неизвестных образцов проводится повторная калибровка спектрометров. Нами отмечено, что за 2–3 часа работы дрейф сигналов в спектрометрах не превышает 2–3%. Применение повторных калибровок, а также перекрестный контроль результатов, полученных разными приборами, позволило отказаться от трудоемкой и зачастую недостаточно точной операции добавления во все анализируемые растворы внутреннего стандарта.

В таблицах 1 и 2 представлены основные аналитические характеристики используемых методов — пределы определения элементов и эквивалентные фоновые концентрации. Все характеристики полу-

Таблица 1. Аналитические характеристики, достигаемые на ИСП-АЭС приборе Optima 2000DV

Элемент, линия	Предел определения метода, мкг/л (ppb)	Концентрация, эквивалентная фону, мкг/л (ppb)
As 193.696	12	18
Se 203.985	18	19
Zn 206.200	2.6	34
P 213.617	11	68
Cd 214.440	0.4	1.4
Pb 220.353	2.3	1.7
Ni 221.648	3.2	0.5
Co 230.786	1.8	0.7
Be 234.861	0.07	0.06
Fe 238.204	3,0	15
Si 251.611	4.5	180
Mn 257.610	0.07	0.8
Cr 267.716	0.12	0.4
Mg 279.077	3.2	43
Cu 327.393	0.5	1.7
Ti 334.940	0.5	0.5
Al 396.153	32	40
Ca 422.673	3.7	104.
Na 589.592	25	234
Li 610.362	2.3	1.5
K 766.490	1.7	80

чены при тех же параметрах измерений, которые используются в повседневном рабочем анализе. Рабочие пределы определения метода ИСП-АЭС рассчитаны по общепринятой методике (Barnard et al., 1993), как  $3 * \sigma_{\text{фона}} * KЭФ$ , где 3 — значение распределения Стьюдента для 98%-го доверительного интервала и семи степеней свободы (восемь реплик чтения),  $\sigma_{\text{фона}}$  — относительное стандартное отклонение фона, выраженное в долях единицы, КЭФ — концентрация, эквивалентная фону.

Рабочие пределы определения ИСП-МС метода рассчитаны по общепринятой методике (Kishi, Kawabata, 2001) при 98% доверительном интервале, как  $3ЧСКО_{\text{фона}}/ES$ , где 3 — значение распределения Стьюдента для 98%-го интервала и семи степеней свободы, СКОфона — стандартное отклонение фонового сигнала (имп\*сек<sup>-1</sup>), рассчитанное по восьми репликам чтения, ES — изотопная чувствительность, выраженная в имп. \*сек<sup>-1</sup>/мкг\*л<sup>-1</sup>, (табл. 2).

Контроль погрешности методов анализа. Контроль за систематическими и случайными погрешностями в ходе анализа осуществлялся путем систематических определений элементного состава стандартных образцов сравнения. При анализе волос для этой цели использовался стандартный образец человеческих волос GBW09101, КНР. В таблице приведены результаты анализа образца GBW09101 в сопоставлении с паспортными данными для этого образца. Следует отметить, что паспорт этого стандартного образца датирован 1988 г и с тех пор повторных переаттестаций и дополнений к паспорту не делалось. Тем не менее, до сегодняшнего дня этот стандарт является наиболее полно аттестованным и доступным по цене стандартным образцом волос. Приведенные средние значения измеренных концентраций и стандартные отклонения рассчитаны по выборке, содержащей свыше ста результатов измерений образца GBW09101. За исключением результатов для Ni, Cr и Hg все полученные нами цифры лежат в пределах  $\pm 3$  стандартных отклонения от паспортного значения, таблица 3. Для выяснения причин такого отклонения нами были проведены дополнительные измерения концентрации этих элементов методом стандартных добавок, таблица 4. Эти измерения подтвердили несоответствие паспортных данных действительному содержанию этих элементов в имеющемся эталоне. Нами отмечено систематическое занижение экспериментальных значений относительно паспортных по этим элементам, в среднем для никеля на 30%, для хрома на 48%, для ртути на 36%. Эти отклонения могут быть обусловлены несоответствием паспортных данных действительному содержанию этих элементов в имеющемся эталоне. На это обстоятельство указывает и тот факт, что сделанные в другой лаборатории анализы этого же стандартного образца, полученного из другой партии, обнаруживают систематическое расхождение результатов по Ni и Cr, в среднем для никеля и хрома на 40% (Демидов, 2001). Относительно ртути можно предположить, что за время

хранения она частично улетучилась или сорбировалась материалом упаковки (стекло и полиэтилен).

Таблица 2. Аналитические характеристики, достигаемые на ИСП-МС приборе ELAN 9000

Элемент, изотоп	Предел определения метода, нг/л (ppt)	Концентрация, эквивалентная фону, нг/л (ppt)
Li 7	3	35
Be 9	10	55
B 11	40	630
Na 23	25	230
Mg 25	30	180
Al 27	20	280
P 31	500	1900
K 39	600	35000
Ca 43	12000	30000
Ti 47	50	375
V 51	8	100
Cr 53	40	370
Mn 55	1	15
Fe 57	300	15500
Co 59	1	4
Ni 60	1	12
Cu 65	30	250
Zn 66	80	250
Ga 69	0.5	5
Ge 74	3	8
As 75	70	70
Se 82	115	270
Rb 85	1	4
Sr 88	3	6
Zr 90	1	3
Mo 98	3	9
Ag 109	2	7
Cd 114	3	6
Sn 120	2	8
Sb 121	3	7
Ba 138	3	2
W 184	4	6
Pt 195	1	4
Au 197	2	17
Hg 202	10	50
Tl 205	1	1
Pb 208	2	4
Bi 209	1	2

Таблица 3. Стандартный образец GBW09101, волосы, КНР. Сравнение измеренных и паспортных значений

Элемент	Прибор: Optima - ИСП-АЭС, Elan - ИСП-МС	Среднее, мкг/г	Стандартное отклонение	Среднее, мкг/г	Стандартное отклонение
	Измерение			Паспортное значение	
Al	Optima	13,63	0,96	13,3	2,3
As	Elan	0,71	0,03	0,59	0,07
B	Elan	1,11	0,25		
Be	Elan	0,0034	0,0013		
Ba	Elan	5,94	0,50	5,41	
Ca	Optima	899,2	55,23	1090	72
Cd	Elan	0,076	0,004	0,095	0,012
Co	Elan	0,12	0,01	0,135	0,008
Cr	Elan	3,05	0,64	4,77	0,38
Cu	Elan	23,30	3,31	23	1,4
Fe	Optima	68,37	3,87	71,2	6,6
Ga	Elan	0,27	0,04		
Ge	Elan	0,011	0,002		
Hg	Elan	1,38	0,18	2,16	0,21
K	Optima	5,83	2,16	11,8	
Li	Elan	0,009	0,003		
Mg	Optima	109,4	5,19	105	6
Mn	Elan	2,62	0,29	2,94	0,2
Mo	Elan	0,43	0,07	0,59	
Na	Optima	253,5	65,23	266	12
Ni	Elan	2,59	0,36	3,17	0,4
P	Optima	152,	12,60	184	
Pb	Elan	7,42	0,36	7,2	0,7
Rb	Elan	0,024	0,004		
Sb	Elan	0,24	0,03	0,21	
Se	Elan	0,68	0,07	0,58	0,05
Si	Optima	13,77	2,23		
Sn	Elan	0,32	0,02		
Sr	Elan	0,42	0,14	4,19	0,4
Ti	Elan	1,16	0,36		
Tl	Elan	0,0091	0,0008		
V	Elan	0,07	0,01	0,069	
W	Elan	0,071	0,009		
Zn	Optima	187,55	9,01	189	8

Примечание: значения концентраций, приведенные без стандартного отклонения, являются не аттестованными.

В таблице 4 представлены результаты определения стандартных добавок методом «введено-найдено», сделанных к раствору образца GBW 09101. Правильность определения практически всех перечисленных элементов варьирует в интервале  $100 \pm 10\%$  от истинного значения.

В качестве иллюстрации сходимости результатов, полученных обоими методами, на рисунке 1 представлена диаграмма, построенная по результатам определения магния. Для ИСП-МС определения использовался изотоп  $^{25}\text{Mg}$ , для ИСП-АЭС определения использована линия Mg 279.077. В обоих

Таблица 4. Правильность результатов анализа стандартных добавок для образца GBW09101, волосы, КНР

Элемент	Образец без стандартной добавки, мкг/л, найдено	Концентрация стандартной добавки, мкг/л, введено	Образец с введенной добавкой, мкг/л, найдено	Правильность, %
ИСП-МС, Еп an 9000				
Li	0,0325	0,02	0,0514	94,8
Be	0,0310	0,02	0,0498	94,2
Mg	326,9	398,1	717,2	98,0
Ti	2,89	4,0	7,21	107,9
V	0,308	1,0	1,38	107,3
Cr	5,65	4,0	9,78	103,2
Mn	8,76	15,7	24,7	101,5
Co	0,373	4,0	4,32	98,8
Ni	6,46	23,7	28,8	93,9
Cu	80,89	4,0	85,15	106,4
As	4,02	4,0	8,05	100,7
Se	2,39	1,0	3,49	110,6
Sr	15,59	15,79	31,11	98,2
Mo	1,18	1,0	2,22	103,4
Cd	0,286	4,0	4,21	97,9
Sn	1,32	1,0	2,41	109,7
Hg	5,01	1,0	5,97	95,6
Pb	28,30	23,64	49,67	90,4
ИСП-АЭС, Optima 2000DV				
Zn	682,1	396,8	1083	101,0
P	513,8	436,2	974,7	105,6
Fe	214,8	159,3	377,4	102,0
Si	17,59	48,86	65,22	97,4
Mg	346,5	398,1	734,1	97,3
Al	29,20	78,01	104,66	96,7
Ca	3101	795,1	3932	104,4
Na	1044	1349	2423	102,2
K	14,34	787,2	760,9	94,8

случаях для анализа использованы не самые чувствительные показатели. Расчетные значения коэффициента корреляции и коэффициентов в уравнении линии регрессии свидетельствуют о хорошей сходимости результатов и об отсутствии значимого систематического различия между результатами, полученными двумя методами, с использованием различных серий калибровочных стандартов.

## Выводы

Реализовано совместное использование методов ИСП-АЭС и ИСП-МС для элементного анализа, которое обладает следующими преимуществами:

1. Более рациональное использование приборов. Матричные элементы, к которым в биологических образцах можно отнести Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Fe,

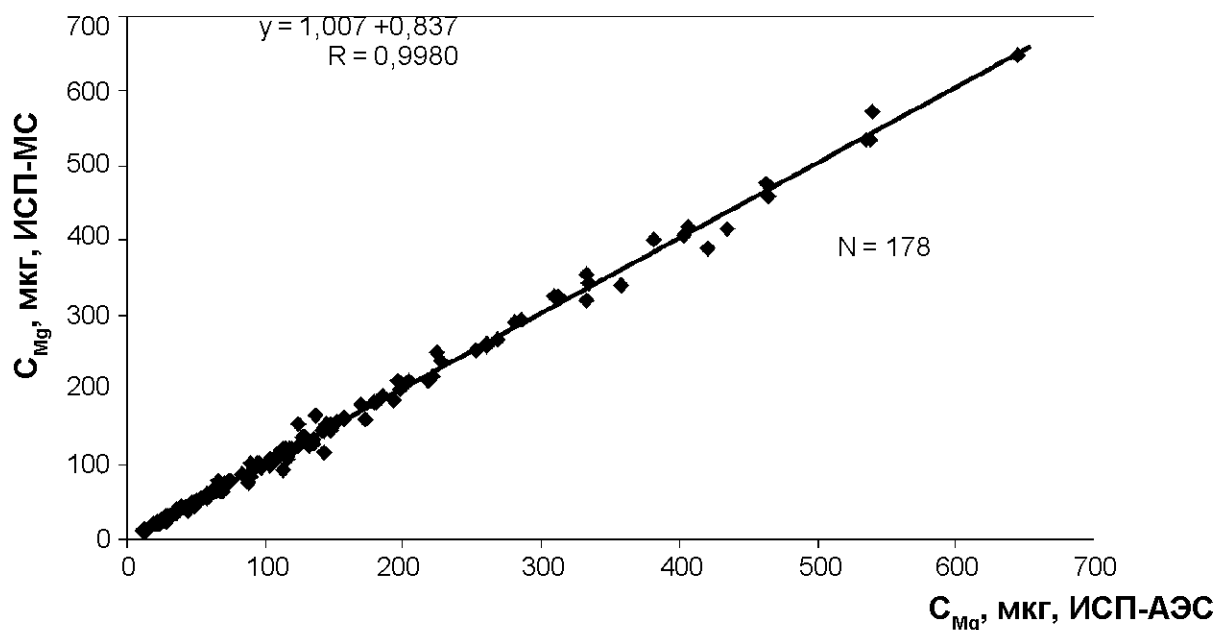


Рис. 1. Корреляция между значениями концентрации Mg в волосах, определенными методами ИСП-МС и ИСП-АЭС.

Zn, определяются методом ИСП-АЭС, который эффективен для точного измерения высоких концентраций элементов. Остальные элементы анализируются методом ИСП-МС, который за счет большей чувствительности позволяет уверенно определять низкие концентрации широкого круга элементов в самых разных матрицах. Становится возможной предварительная разбраковка неизвестных образцов по составу матрицы.

2. Становится возможным подтверждение результатов измерения по нескольким элементам, которые определяются двумя методами, с использованием двух независимых комплектов калибровочных стандартов для обоих приборов.

3. За счет параллельной работы двух приборов увеличивается скорость определения, при этом снижаются затраты на расходные материалы и детали (аргон, детектор масс-спектрометра) а также на техническое обслуживание спектрометров.

4. За счет объединения двух приборов в единую компактную систему обеспечивается заметная экономия ресурсов, затрачиваемых на поддержание микроклимата и чистоты в лабораторной среде.

## Литература

- Демидов В.А. 2001. Сравнительная эколого-физиологическая характеристика элементного гомеостаза жителей различных районов Московской области. Дисс... канд. биол. наук. М. 128 с.
- Методика определения микроэлементов в диагностирующих биосубстратах атомной спектрометрией с индуктивно связанной аргоновой плазмой / Методические рекомендации. Утверждены ФЦГСЭН МЗ РФ 29.01.2003. М.: ФЦГСЭН МЗ РФ. 2003. 17 с.
- Скальный А.В. 2000. Диагностика и профилактика микроэлементозов с учетом результатов медико-экологической экспертизы // В.Г. Маймулов, С.В. Нагорный, А.В. Шабров. Основы системного анализа в эколого-гигиенических исследованиях. СПб.: СПб ГМА им. И.И. Мечникова. С.175—200.
- Современные методы анализа и оборудование в санитарно-гигиенических исследованиях / Под ред. Г.Г. Онищенко, Н.В. Шестопалова. М.: ФГУП «Интерсэп», 1999. 496 с.
- Barnard T.W., Ivaldi J.C., Lundberg P.L., Yates D.A. 1993. Limits of detection. Perkin Elmer Corp. 75 pp.
- Kishi Y., Kawabata K. 2001. The best way to measure the performance of an ICP-MS // Semiconductor News. Vol.2. Iss.1. Perkin Elmer Sciex. P.4—5.