

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ТОМСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

Кускова Ирина Сергеевна

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПРОВЕДЕНИЯ ЭЛЕМЕНТНОГО АНАЛИЗА  
БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ МЕТОДАМИ ДУГОВОЙ И ПЛАМЕННОЙ АТОМНО-  
ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ

Специальность 02.00.02 – аналитическая химия

диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:  
доктор технических наук,  
профессор В.И. Отмахов

Томск–2017

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	5
Глава 1 Элементный анализ в медицине.....	10
1.1 Биоэлементология – новое научное направление .....	10
1.2 Биологическая роль химических элементов.....	13
1.3 Современное состояние аналитического контроля исследуемых объектов .....	15
Глава 2 Объекты и методы исследования .....	20
2.1 Объекты исследований .....	20
2.1.1 Биосубстраты (волосы).....	20
2.1.2 Лекарственные растения ( <i>Agrimonia pilosa</i> ).....	21
2.1.3 Подопытные животные .....	23
2.2 Методы исследования .....	24
2.2.1 Дуговая атомно-эмиссионная спектрометрия с многоканальным анализатором эмиссионных спектров .....	24
2.2.2 Метод пламенной фотометрии .....	28
2.2.3 Метод атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС) .....	30
2.2.4 Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой.....	31
2.2.5 ИК-спектроскопия .....	33
2.2.6 Рентгенофазовый анализ (РФА).....	34
2.2.7 Растровая электронная микроскопия с применением энергодисперсионного микроанализа.....	37
2.2.8 Дифференциально-термический анализ.....	39
Глава 3 Разработка методики выполнения измерений элементного состава волос методом дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии с многоканальным анализатором эмиссионных спектров .....	41
3.1 Пробоотбор и пробоподготовка волос для метода ДАЭС с МАЭС .....	41
3.2 Скрининг элементного состава зольного остатка волос.....	42
3.3 Полуколичественное определение основных (матричных) элементов зольного остатка волос .....	42
3.4 Определение молекулярного и фазового состава зольного остатка волос .....	43
3.5 Оптимизация условий количественного определения макроэлементов в зольном остатке волос методом ДАЭС с МАЭС.....	48
3.5.1 Выбор степени разбавления зольного остатка волос .....	48
3.5.2 Предварительное оценивание погрешности определения матричных элементов .....	51
3.6 Оптимизация условий количественного определения микроэлементов в зольном остатке волос методом ДАЭС с МАЭС.....	52
3.7 Способы устранения матричных влияний при спектральном анализе зольного остатка волос .....	61
3.8 Расчетные формулы для представления результатов анализа волос.....	65
3.8.1 Расчетная формула для представления результатов анализа макроэлементов, лежащих в диапазоне 10–200 мкг/г и более .....	65

3.8.2 Расчетная формула для представления результатов анализа микроэлементов, лежащих в диапазоне 1-10 мкг/г и менее.....	65
3.9 Предварительная оценка правильности результатов количественного спектрального анализа макро– и микроэлементов в сравнении с другими методами .....	66
3.10 Показатели качества измерений после метрологической аттестации методики.....	67
3.11 Расчет пределов повторяемости и внутрилабораторной прецизионности .....	69
Глава 4 Аналитическое сопровождение создания лекарственных препаратов для преодоления экстремальных нагрузок .....	71
4.1 Модельная схема создания лекарственного препарата.....	71
4.1.1 Спектральный анализ растений и водных вытяжек .....	73
4.1.2 Спектральный анализ биологически активных веществ (БАВ) .....	76
4.1.3 Спектральный анализ подопытных животных .....	79
Глава 5 Практические применения разработанных методик и аналитических подходов ....	83
5.1 Оценка биологической роли химических элементов в формировании элементного статуса человека и в диагностике заболеваний.....	83
5.2 Элементный анализ волос в неврологии и психиатрии.....	96
5.3 Взаимосвязи элементного состава волос и психологических особенностей человека ...	98
5.4 Элементный портрет человека как один из маркеров интеллектуальных способностей .....	101
5.5 Оценка эффективности действия лекарственного препарата для преодоления экстремальных нагрузок .....	104
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	107
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	108
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 .....	116

ДАЭС – дуговая атомно-эмиссионная спектрометрия

МАЭС – многоканальный анализатор эмиссионных спектров

ПФ – пламенная фотометрия

ААС – атомно-абсорбционная спектрометрия

ИСП-АЭС – атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой

ИСП-МС – масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой

РФА – рентгенофазовый анализ

РЭМ – растровая электронная микроскопия

ДТА – дифференциально-термический анализ

СФ – спектрофотометрический метод

БАД – биологически активные вещества

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ЦНС – центральная нервная система

ГСО (СО) – государственные стандартные образцы

ВРПС – водорастворимые полисахариды

ДВ – дубильные вещества

МВИ – методика выполнения измерений

ЦВП – цереброваскулярная патология

ТДР – тревожно депрессивные расстройства

ПИКН – пост инсультные когнитивные нарушения

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

## Введение

**Актуальность работы.** Стабильность химического состава организма человека является одним из важнейших и обязательных условий его нормального функционирования. Соответственно, отклонения в содержании химических элементов, вызванные экологическими и климатогеографическими факторами, могут приводить к широкому спектру патологических состояний здоровья человека, в свою очередь заболевания могут являться причиной изменения элементного статуса человека. В отличие от органических веществ, химические элементы не синтезируются в организме: мы получаем их с пищей, водой, вдыхаемым воздухом, а потому не всегда можем самостоятельно проконтролировать их количество.

В современной практике диагностики макро- и микроэлементов в организме человека существуют методы их определения в цельной крови, моче, волосах, слюне, зубном дентине и костной ткани. Волосы, как объект исследования, более предпочтительны среди других биологических субстратов. Их химический состав постоянен благодаря кератиновой наружной оболочке, препятствующей как потере внутренних компонентов, так и проникновению внешних загрязнений. Волосы как наиболее благоприятный материал для исследований имеют ряд преимуществ: простота и неинвазивность пробоотбора, не требуют для хранения специального оборудования, не портятся и не имеют ограничений по сроку хранения. Имеющиеся данные говорят о том, что содержание микроэлементов в волосе человека отражает микроэлементный баланс организма в целом, является интегральным показателем минерального обмена и позволяет точно описать метаболического состояния организма. Волосы используются как предпочтительный тест-объект Агентством по Защите Окружающей Среды США (АЗОС) для определения полученной дозы тяжёлых металлов и с целью биологического мониторинга экологических антропогенных загрязнений окружающей среды. Использование волос в криминалистической практике позволяет ответить на некоторые вопросы, касающиеся установления морфологических признаков, таких как их принадлежность человеку, разделение по половому признаку, выяснения способа отделения волос и места их произрастания.

Лучшими природными источниками макро- и микроэлементов являются растения. В них элементы образуют комплексные и металлоорганические соединения, что обуславливает их функциональную активность, помогает лучшей усвояемости организмом человека. Химические элементы играют существенную роль в биогенезе большинства биологически активных веществ. Элементный состав необходимо рассматривать как важную составную часть лекарственных средств, получаемых из растительного сырья и широко применяющихся

повсеместно. Также с помощью растений удастся восстанавливать элементный баланс организма.

Еще одним объектом исследования в работе были подопытные крысы, геном которых имеет сходство с геномом человека. Лабораторные крысы использовались для тестирования при создании лекарственных препаратов ритмомоделирующего действия.

Выбранные объекты представляют особый интерес для аналитической химии, так как требуют индивидуального подхода при разработке методик анализа методами атомной спектроскопии.

Поскольку минимальное содержание регламентируемых элементов в пробах волос, растений и подопытных крыс, как правило, более чем 0,1 мкг/г, целесообразно для проведения анализа использовать метод дуговой атомно-эмиссионной спектрометрии с многоканальным анализатором эмиссионных спектров (ДАЭС с МАЭС). Многоканальный анализатор эмиссионных спектров с использованием фотодиодной линейки в качестве детектора позволяет автоматизировать многочисленные процедуры проведения спектрального анализа, снизить пределы обнаружения по ряду элементов и существенно улучшить метрологические характеристики. В настоящее время отсутствуют метрологически аттестованные методики количественного анализа методом ДАЭС с МАЭС, что существенно тормозит его применение и использование в аккредитованных лабораториях. Применяемые в настоящее время для анализа биосубстратов человека и растений методы атомно-эмиссионной и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой обладают более низкими пределами обнаружения, однако это их достоинство не востребовано для проведения текущих лабораторных анализов. Кроме того, предъявляются высокие требования, например, массовая доля кислот не должна превышать 5%, а массовая доля солей не выше 0,1% в анализируемых растворах, также высоки требования к чистоте применяемых реактивов. При использовании метода МС-ИСП появляются проблемы, связанные с интерференциями при определении легких элементов.

Работа выполнена в аккредитованном Томском региональном центре коллективного пользования, в лаборатории мониторинга окружающей среды (аттестат аккредитации № РОСС RU.0001.517686) Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет». Исследования выполнялись в рамках федеральной целевой программы (ФЦП РФ) Субсидия 14.594.21.0001 от 15 августа 2014 г. «Развитие Томского регионального центра коллективного пользования научным оборудованием для реализации перспективных междисциплинарных исследовательских проектов по направлению клеточная и регенеративная медицина».

**Цель работы:**

1. Разработка методик количественного определения макро- и микроэлементов состава ряда биологических объектов методом дуговой и пламенной спектрометрии.

Для достижения поставленной цели потребовалось решить следующие **задачи**:

1. С помощью физико-химических методов изучить элементный, молекулярный и фазовый состав зольного остатка волос, используемого для концентрирования примесей на стадии пробоподготовки при атомно-эмиссионном спектральном анализе.
2. Разработать способы пробоподготовки, позволяющие учесть матричные влияния и проводить количественное определение в волосах макроэлементов на уровне концентраций 100–2000 мкг/г и микроэлементов на уровне концентраций 1–10 мкг/г с удовлетворительными метрологическими характеристиками.
3. Разработать и аттестовать методику определения элементного состава волос человека методом ДАЭС с МАЭС для проведения клинико-лабораторных исследований пациентов в аккредитованных лабораториях.
4. Разработать алгоритм химико-спектрального сопровождения процесса создания лекарственных препаратов на основе растений *Agrimonia pilosa* для преодоления экстремальных нагрузок.
5. Провести практическую апробацию новой методики и предлагаемых подходов в соответствии с алгоритмом аналитического сопровождения в клинико-лабораторных условиях.

**Научная новизна** выполненной работы состоит в следующем:

1. Впервые подробно изучены элементный, молекулярный и фазовый состав зольного остатка волос – концентрата примесей с целью оптимизации условий проведения дугового атомно-эмиссионного спектрального анализа.
2. Изучены закономерности матричных влияний при спектральном анализе волос и предложены эффективные способы их устранения путем введения корректирующих коэффициентов и добавок.
3. Разработан алгоритм аналитического сопровождения процесса создания лекарственных препаратов на основе растений *Agrimonia pilosa*, включающий подходы к анализу растений, вытяжек из них биологически активных веществ и мозговой ткани подопытных животных с учетом матричных влияний на содержание регламентирующих элементов.

**Практическая значимость работы.** Разработана, аттестована и передана для внесения в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений методика МУ 08-47/380 «Методика (метод) измерений массовой концентрации элементов в пробах волос методом атомно-эмиссионного анализа с дуговым возбуждением спектра». Разработанная

методика ДАЭС с МАЭС определения элементного состава волос используется в аккредитованной лаборатории мониторинга окружающей среды Томского регионального центра коллективного пользования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет». В течение пяти последних лет совместно с факультетскими клиниками Сибирского государственного медицинского университета (СибГМУ) выполнено более 500 анализов волос пациентов различного пола, возраста, социального статуса, здоровых и имеющих патологии, проживающих на территории Томской области. Разработанная методика определения элементного состава волос может быть использована в контролирующих лабораториях медико-диагностического профиля. На основании предложенного алгоритма аналитического сопровождения доказана перспективная возможность использования растений *Agrimonia pilosa* для создания препаратов, позволяющих снижать экстремальные нагрузки.

#### **Защищаемые положения**

1. Результаты исследований элементного, молекулярного и фазового состава золы волос с целью дальнейшего учета матричных влияний на стадии пробоподготовки для последующего проведения спектрального анализа.
2. Условия инструментального дугового атомно-эмиссионного спектрального определения элементного состава зольного остатка волос человека, включающие подбор условий пробоподготовки, оптимизацию проведения спектрального анализа и метрологическую оценку показателей качества измерений.
3. Методики анализа волос человека на содержание макро- и микроэлементов, лекарственных растений, экстрактов из них и мозговой ткани подопытных животных на содержание щелочных и щелочноземельных элементов.
4. Результаты определения макро- и микроэлементов состава волос, растений, экстрактов и мозговой ткани крыс методами дуговой и пламенной спектрометрии.

**Достоверность научных положений** обусловлена представительным объемом проведенных экспериментов, использованием современных методов исследования, проведенных на поверенном оборудовании, метрологической обработкой результатов, сличительными испытаниями, которые хорошо согласуются с данными, полученными с использованием альтернативных методов ИСП-МС, ААС, ПФ.

**Личный вклад автора** состоял в анализе литературных данных, планировании и проведении экспериментальной части работы, включая разработку и аттестацию методики ДАЭС с МАЭС по определению элементов в волосах, проведение измерений методами ПФ,



ААС, ДАЭС с МАЭС и интерпретацию данных. Обсуждение полученных результатов и подготовку материалов проводили совместно с научным руководителем и соавторами.

**Публикации.** Основное содержание диссертации опубликовано в 16 научных работах, в том числе 6 статей – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, 9 публикаций в материалах международных, республиканских и всероссийских конференций.

**Апробация работы.** Основные результаты работы были представлены на: XIV международном симпозиуме «Применение анализаторов МАЭС в промышленности» (Новосибирск, 2014); Международной научно-практической конференции «Пути применения научных достижений: тенденции, перспективы и технологии развития в биологии, медицине» (Санкт-Петербург, 2015); Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени профессора Л.П. Кулёва «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2014, 2015); Международной научно-практической конференции «Теоретические и прикладные вопросы науки и образования» (Тамбов, январь 2015); Четвертой Республиканской конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ-2015» (Минск, 2015); Всероссийской с международным участием конференции «Полифункциональные химические материалы и технологии» (Томск, 2013, 2015); I Всероссийской конференции с международным участием «Химический анализ в медицине» (Москва, 2015).

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 116 страницах машинописного текста, включает 25 таблиц, 29 рисунков и состоит из введения, 5 глав, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 137 наименований.

## Глава 1 Элементный анализ в медицине

### 1.1 Биоэлементология – новое научное направление

В последние десятилетия в нашей стране быстро развивается новая область знаний, получившая название «биоэлементология» – это научно-практическое направление, которое изучает химический (биоэлементный) состав человеческого тела в нормальных условиях, а также при возникновении различных заболеваний. Существует и другое определение: биоэлементология – научно-практическое направление, изучающее состав, содержание, связи и взаимодействие элементов в живых организмах [1].

Биоэлементология тесно связана с наукой о питании – нутрициологией, так как многие биоэлементы являются микронутриентами, т.е. теми веществами, которые хотя и содержатся в пище в очень небольших (минорных) количествах, но совершенно необходимы человеку для нормальной жизнедеятельности. Химические элементы (Ca, Se, I, Mn и другие) входят в состав продуктов питания, некоторые из них попадают в организм человека с водой. К настоящему времени установлено, что недостаток в организме необходимых биоэлементов (также, как и избыток токсических элементов) ухудшает самочувствие, снижает работоспособность, вызывает болезни [2, 3].

Разделами биоэлементологии являются медицинская элементология, ветеринарная элементология, экологическая элементология [1]. Медицинская элементология – это раздел биоэлементологии, изучающий состав, содержание, связи и взаимодействие элементов в организме человека в норме и при патологических состояниях. Задачей медицинской элементологии является разработка способов профилактики нарушений биоэлементного состава организма человека и их коррекции при развившихся патологических состояниях (дисэлементозах). Отдельные практические направления медицинской элементологии – биоэлементопрофилактика, биоэлементотерапия. Биоэлементопрофилактика – раздел медицинской элементологии, разрабатывающий способы предупреждения дефицита биоэлементов в организме путем их усиленного введения с функциональными продуктами питания, БАД и лекарствами, а также с помощью методов профилактической коррекции биоэлементного обмена. Биоэлементотерапия – раздел медицинской элементологии, разрабатывающий способы лечения биоэлементозов путем целенаправленного использования средств, содержащих в больших количествах необходимые элементы (в том числе обогащенные ими продукты питания, лекарственные препараты, БАД), а также средств, целенаправленно влияющих на обмен отдельных биоэлементов, с целью восстановления

биоэлементного состава организма (например, введение йода при йод-дефицитных состояниях).

Второе направление – ветеринарная элементология. Это раздел биоэлементологии, изучающий связи, состав, содержание и взаимодействие биоэлементов в организме животных в норме и при измененных, патологических состояниях. Её задачей является разработка приемов профилактики нарушений элементного состава организма животных и их корректировки при имеющихся патологических состояниях. В свою очередь, элементный состав, как соотношение биоэлементов в организме, который характеризуется постоянством и динамическим равновесием в составе отдельных элементов относительно друг друга (биоэлементный гомеостаз) [4].

Дисэлементоз (биоэлементоз) – это нарушение биоэлементного состава организма (избыток, дефицит, дисбаланс биоэлементов). Дисэлементоз – одно из проявлений болезни – жизни, нарушенной в своем течении повреждением структуры или функций организма под влиянием внешних и внутренних факторов. Практически все хронические заболевания являются причиной, проявлением или следствием дисэлементозов [5].

Биоэлементы (от греч. *Bios* – жизнь) – элементы, абсолютно необходимые для жизни; биоэлементы постоянно находятся в составе организма и играют определяющую роль в процессах жизнедеятельности. Поступая в организм человека из различных источников биоэлементы усваиваются и распределяются в клетках, тканях и органах [6]. В составе живого организма у химического элемента возникают особые свойства, которыми он же, находясь в «неживой» природе, не обладает.

Относительно классификаций биоэлементов, можно сказать что, к настоящему времени предложено несколько вариантов, но ни одна из них не является общепризнанной [1, 6]. Наиболее практически аргументированным критерием, используемым для классификации, является содержание биоэлемента в организме. Он объективен, так как можно количественно оценить содержание биоэлемента и полезен, так как дает представление о составе и соотношении элементов в биообъекте. Все элементы в зависимости от содержания в организме делятся на:

– макроэлементы – это биоэлементы, которые содержатся в организме взрослого человека в существенных количествах, к макроэлементам относятся все биоэлементы, содержание которых в организме превышает 0,1 % массы тела. В числе этих элементов – органогены (O, C, H, N) и собственно макроэлементы (Ca, P, K, Na, S, Cl, Mg). Все макроэлементы являются эссенциальными биоэлементами.

– микроэлементы – элементы, доля которых в организме человека находится в пределах от 0,01 до 0,00001 %; другими словами, к микроэлементам относятся все элементы, содержание которых меньше 0,1 % массы тела.

– ультрамикроэлементы, их содержание ниже  $10^{-5}$  %. К ним относятся Mo, Se, Ti, Co, Cs и др.

По своему значению для обеспечения жизнедеятельности организма микроэлементы можно разделить на три группы [1]:

– микроэлементы жизненно необходимые (эссенциальные) – биоэлементы, которые стабильно содержатся в организме и для которых установлена их исключительная роль в обеспечении жизнедеятельности. В число этих элементов входят Zn, Fe, Cu, Co, Mn, Mo, Cr, Se, I. Все жизнеобеспечивающие микроэлементы поступают в организм с потребляемой пищей и питьевой водой и относятся к числу незаменимых микронутриентов.

– микроэлементы потенциально токсичные – элементы, проникновение которых в организм человека в содержании, превышающем допустимую норму, может вызвать развитие различных изменений и патологических состояний. К числу этих элементов можно отнести Rb, Zr, Sn, Ag, Au, W, Ge, Ga, Sr, Ti, Ta.

– микроэлементы токсичные и малоизученные – значительная группа элементов, в микроколичествах постоянно находящихся в организме, но их биологическая значимость изучена еще недостаточно. Так как многие из них обладают сравнительно высокой токсичностью, как правило основное внимание уделяют именно их негативному воздействию на организм. К этой группе относятся Al, Pb, Ba, Bi, Cd, Hg, Tl, Be, Sb. Токсичные и малоизученные микроэлементы не входят в число биоэлементов (эссенциальных микроэлементов). Существует не малая группа химических элементов, в норме не определяющихся в организме человека, и роль которых в обеспечении жизнедеятельности не изучена или отсутствует. К ним относятся трансурановые элементы, инертные газы, актиноиды, редкоземельные металлы. Как правило относительно организма человека эти элементы называют примесными или малоизученными. Их подразделяют на аккумулирующиеся (Hg, Pb, Cd) и неаккумулирующиеся (Al, Ag, Ga, Ti, F).

– микроэлементы условно эссенциальные (условно жизненно необходимые) – это элементы, о свойствах которых с течением времени, накапливается все большее количество данных об их важной роли в обеспечении стабильной, нормальной жизнедеятельности организма. К ним на данный период времени относят Br, F, Li, B, Si, Ni, V, As. Вероятно, некоторые из этих элементов со временем «переместятся» в группу жизненно важных микроэлементов.

## 1.2 Биологическая роль химических элементов

Роль микроэлементов в нашем организме велика. Он состоит из 50 миллиардов клеток, которые непрерывно рождаются, растут и отмирают. С возрастом процесс замедляется, а жизнь клетки зависит от питания, которое может заменить лекарства. Ведь содержание микроэлементов в продуктах значительно улучшает самочувствие человека, если их достаточно для нормальной жизнедеятельности организма.

Макро- и микроэлементы, витамины присутствуют в продуктах животного и растительного происхождения [7]. В современных условиях соединения можно синтезировать в лабораторных условиях. Однако проникновение минералов с растительной либо животной пищей приносит гораздо больше пользы, чем применение соединений, полученных в процессе синтеза. В отличие от органических веществ, химические элементы не синтезируются в организме: мы получаем их с пищей, водой, вдыхаемым воздухом. Таким образом, употребляя в пищу продукты питания различного происхождения в достаточном количестве и придерживаясь правильного питания, мы можем восстановить элементный баланс организма, что позволяет человеку избежать патологических состояний здоровья. В таблице (1) представлен элементный состав продуктов питания.

Таблица 1 – Биогенные элементы и продукты питания, богатые ими

Элемент	Пищевые продукты – источники элементов
Кальций	Кунжут, молочные продукты, петрушка, шпинат, бобы, фасоль, орехи, рыба.
Фосфор	Молоко, мясо, рыба, хлеб, овощи, яйца.
Калий	Молочные продукты, мясо, какао, томаты, бобовые, дыня, черный чай.
Натрий	Колбаса, сало, соленая рыба, икра, сыр, соленья, маслины, кукурузные хлопья.
Магний	Растительная пища, вода, поваренная соль
Железо	Мясо (говядина), печень, рыба (тунец), тыква, устрицы, овсянка, горох, какао, листовая зелень, пивные дрожжи, инжир, изюм.
Цинк	Говядина, печень, морские продукты (устрицы, моллюски, сельдь), зародыши пшеницы, рисовые отруби, овсяная мука, морковь, горох, лук, шпинат и орехи.
Медь	Морепродукты, бобовые, капуста, картошка, крапива, кукуруза, морковь, шпинат, яблоки, какао.
Марганец	Ржаной хлеб, пшеничные и рисовые отруби, соя, горох, картофель, свекла, помидоры, черника, лекарственные растения (багульник, эвкалипт).
Кобальт	Печень, молоко, красная свекла, редис, зеленый лук, капуста, петрушка, салат, чеснок.
Хром	Растительная пища, овощи, ягоды, фрукты, лекарственные растения (сушеница топяная, Melissa, гинкго Билоба).
Кремний	Овощи, фрукты, лесные ягоды, бобовые, цельнозерновые культуры, продукты животного происхождения, травы.

Никель	Какао, чай, гречка, морковь, салат
Ванадий	Растительное масло, грибы, петрушка, печень, жирное мясо, морская рыба, соя, укроп, хлебные злаки.
Литий	Минеральная вода, соль (пищевая и каменная), картофель, томаты, морские водоросли, редис, салат, персик, квашеная капуста.
Олово	Жиры и жирная рыба, консервы, свежие овощи, молоко
Стронций	Растительная пища, кости, хрящи.
Алюминий	Растительная пища (овсянка, горох, картофель, рис, авокадо и другие).
Свинец	Овощи (капуста, корнеплоды), фрукты (корень имбиря, вишня, груши, калина, черешня), орехи и семена, бобовые, пшеничные отруби; грибы (маслята); консервы в жестяной таре, рыба.
Кадмий	Морские продукты (устрицы, мидии), зерновые злаки и листовые овощи.

Процессы, которые происходят в нашем организме, очень сильно зависят от количественного содержания микроэлементов, получаемых человеком с пищей и водой [8]. От содержания микроэлементов зависят как кислотно-щелочной баланс крови, так и водно-солевой обмен, и, соответственно, величина артериального давления. От этого же зависит поддержание иммунитета на должном уровне, а также параметры свертываемости крови и многие другие процессы [9].

В литературных источниках имеются данные о том, что около 80% населения имеет более или менее выраженный дисбаланс (отклонение от нормы) микроэлементов [7]. Причин тому множество: стрессы, малое поступление в организм микроэлементов с пищей, неблагоприятная экологическая обстановка (атаки токсичных веществ, высокая концентрация выхлопных газов в атмосфере мегаполисов), радиация (повышенная солнечная активность, озоновые дыры) и другие причины. Все вышперечисленное ведет к нарушению количественного соотношения в организме человека жизненно важных химических элементов. Хроническое нарушение баланса микроэлементов приводит к значительным изменениям функций организма, таких как нарушение в обмене белков, углеводов, жиров, а также витаминов и выработке ферментов. Наряду с этим, ослабляется иммунитет и нарушается работа нервной и эндокринной систем, что вызывает психоневрологические расстройства, онкологические заболевания и воспалительные поражения органов и тканей [8,9].

Но не только дефицит микро- и макроэлементов может оказывать негативное воздействие на организм человека, определенные микроэлементы в больших дозах могут нанести непоправимый вред человеку. Передозировка таких элементов может наступить достаточно быстро, так как они имеют свойство накапливаться. У россиян часто встречаются избытки не только токсичного Pb, Cd, Al, но и превышающие норму

концентрации Fe, V, Ni, Cr, Mo, B. В некоторых регионах наблюдаются избытки Cu, Zn, F, Se, то есть тех элементов, которые входят в состав многих витаминно-минеральных комплексов. При избыточном поступлении в организм эти минералы становятся токсичными, могут провоцировать серьезные заболевания, а также сдвигать сложную систему сбалансированных взаимоотношений макро- и микроэлементов [9].

Врачам-специалистам, прежде чем назначать витаминно-минеральные комплексы, желательно знать не только исходное содержание химических элементов в организме больного, но и представлять взаимодействие и взаимовлияние минералов и витаминов. Поступившие в организм минералы в составе многокомпонентных минеральных и витаминно-минеральных комплексов взаимодействуют между собой: цинк борется с кальцием за одни и те же рецепторы для всасывания в желудочно-кишечном тракте, железо вытесняет медь; марганец – магний; молибден – медь; медь – цинк и молибден и т.д. Часто в витаминно-минеральные комплексы входят сразу несколько конкурирующих между собой элементов. Бесконтрольное и неграмотное применение такого рода фармакологических средств угрожает развитием гипермикроэлементозов и дисбаланса в минеральном обмене [8, 9].

Таким образом, чтобы регулярно удовлетворять потребность во всех необходимых макро- и микроэлементах, рацион питания должен быть разнообразным, включающим продукты, которые богаты этими биологически ценными веществами. Правильное питание – это не только залог прекрасного самочувствия, но и отличная возможность обеспечить свой организм всеми необходимыми микроэлементами.

Результаты анализов помогут врачам-специалистам выявить у пациента причины как общего недомогания, так и определенных проблем в организме, а также подобрать наиболее подходящий комплекс микроэлементов и дать рекомендации по корректировке и лечению минерального дисбаланса [7].

### 1.3 Современное состояние аналитического контроля исследуемых объектов

Фундаментальные и теоретические аспекты изучения среды обитания и живых организмов как открытых систем, взаимодействующих между собой и обменивающихся веществом и энергией с окружающей средой, призывают к постоянному отслеживанию и контролю химического состава всего что нас окружает, в том числе и живую материю. Решением этого громадного комплекса вопросов и занимается аналитическая химия. Значительное применение химического анализа в различных отраслях медицинской науки и

практики в последние годы связано с развитием нового направления – медицинской элементологии. Эта область медицины предполагает количественную оценку содержания химических элементов в живых объектах в большом диапазоне концентраций – от макро до ультрамикроколичеств. За предшествующие пять десятков лет мировой наукой собраны множественные данные об элементном содержании большого количества биологических тканей и жидкостей. Но к значительному количеству результатов различных лабораторий надлежит относиться с высокой осторожностью [10]. Это в большей степени связано со сложностью биологического материала, как объекта исследования. Биологические образцы, зачастую имеют низкое содержание многих химических элементов, требуют особой стандартизации процедур сбора, хранения и пробоподготовки, соблюдения строгой однородности отобранных проб, устранения матричных эффектов при их анализе и т.д. Все вышесказанное говорит о необходимости пристального подбора технологий, способов и методов проведения элементного анализа биообъектов в целом и живых организмов в частности [11]. Важными факторами при выборе метода анализа являются метрологические характеристики, такие как предел обнаружения, диапазон определяемых концентраций, точность метода – правильность и воспроизводимость результатов измерений. В таблице 2 представлены возможности методов часто применяемых для анализа биологических объектов.

Таблица 2 – Предел обнаружения различных методов при анализе биологических образцов

Метод	Предел обнаружения, масс. %
Гравиметрия	0,1-0,01
Титриметрия	0,1-0,01
Электрохимические	$10^{-5} - 10^{-6}$
ИСП АЭС	$10^{-7} - 10^{-9}$
ААС	$10^{-5} - 10^{-6}$
ИСП МС	$10^{-9} - 10^{-12}$
МП АЭС	$10^{-5} - 10^{-6}$
ПФ	$10^{-5} - 10^{-6}$
ДАЭС с МАЭС	$10^{-5} - 10^{-6}$

Как видно из таблицы 2, для количественного определения химических элементов в биологических объектах, применяются химические (гравиметрия, титриметрия) и физико-химические (электрохимические, спектрометрические) методы [12]. Химические методы анализа эффективно применяются при определении веществ, находящихся в исследуемом объекте в больших и средних содержаниях. Но при их простоте в осуществлении проведения



эксперимента и надежности, общий их недостаток – невозможность определения малых (микро) химических элементов в анализируемых объектах. Избирательность и чувствительность в данной ситуации оказывается недостаточной. Что исключительно важно при анализе качества среды обитания человека, биологических проб и материалов. Все же, в некоторых случаях методы титриметрии и гравиметрии применяют для анализа растительного сырья [13]. Электрохимические методы обладают неоспоримым достоинством – низкая цена оборудования, так же они достаточно эффективны, особенно относительно отдельных химических элементов (йода). Но эти методы малопродуктивны и при их применении зачастую необходим индивидуальный подбор условий анализа для разного рода образцов [14, 15]. Одним из наиболее чувствительных электрохимических методов анализа, имеющий достаточно низкий предел обнаружения, является метод инверсионной вольтамперометрии. Данный метод применяется на практике, с использованием современного оборудования, для анализа биообъектов [16, 17]. Однако производительность метода уступает спектрометрическим методам.

В настоящее время большую популярность получили методы ААС, ИСП–МС, ИСП–АЭС. Для ААС характерна гораздо меньшая вероятность совпадения спектральных линий разных элементов и, соответственно, более высокая селективность определений. Кроме того, для ламп с полым катодом характерны весьма простые спектры, имеющие малый фон. Современные методики атомно-абсорбционного определения позволяют контролировать содержание почти 70 элементов Периодической системы. Но возможности ААС ограничены, прежде всего, одноэлементным характером анализа, хотя и с достаточно высокой чувствительностью. Существующие методики [18, 19] позволяют определять содержание ртути в волосах, а также других токсичных элементов в биологических объектах.

В свою очередь метод ИСП-МС является современным методом определения малых (мкг/кг) и сверхмалых (нг/кг и менее) концентраций элементов, а также их изотопного состава в различных объектах. Метод позволяет проводить определение практически всех элементов периодической системы в одной пробе. В настоящее время метод активно применяется для анализа волос человека, что подтверждается наличием соответствующих методик [20, 21]. Наряду с ИСП-МС для анализа объектов растительного и животного происхождения распространен метод ИСП–АЭС, что подтверждает наличие официальных методик и нормативных документов [22, 23]. Часто эти методы применяют в тандеме [24, 25]. Атомно эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой экспрессный высокочувствительный метод идентификации и количественного определения элементов. Приборы, применяемые в ИСП-АЭС обладают возможностью одновременного многоэлементного анализа (более 30 элементов), низкими пределами обнаружения, хорошей

воспроизводимостью, однако метод довольно дорогостоящий. Данный метод используют, в том числе, и для анализа интересующих нас биообъектов (растения, волосы человека) [20].

Атомно-эмиссионная спектрометрия с микроволновой плазмой – метод достаточно новый, стал активно развиваться в последние пять лет. Оптический диапазон измерений 178–900 нм. Важным преимуществом метода является то, что для работы не требуется газ. Азотная плазма, реализуемая в методе МП-АЭС, может работать на воздухе лаборатории при использовании генератора азота. Метод обладает хорошей воспроизводимостью и низкими пределами обнаружения, сравнимыми с пределами обнаружения метода ИСП-МС [26]. Несмотря на существенные достоинства метода МП-АЭС, недостатком является то, что он находится на стадии становления. Так как не решена проблема связанная с требовательностью метода анализа к матричному фону и количеству растворенных солей в растворе. Ряд авторов [27, 28] утверждают, что продолжительный анализ растворов с высокой засоленностью, возможен лишь тогда, когда содержание солей в пробе не превышает 1,5%, так как повышение солевого фона приводит к нестабильности плазмы и увеличивает износ горелки кассетного типа. В силу того, что метод достаточно новый и дорогостоящий, он не получил столь широкого применения для анализа волос, однако есть данные о использовании метода для других биологических объектов (пищевые продукты, почва) [29].

Для определения щелочных металлов в биологических объектах часто используют метод пламенной фотометрии так как для атомизации щелочных элементов и возбуждения спектров атомов вполне хватает температуры пламени применяемой в данном методе газовой горелки. При данных условиях достигаются достаточно низкие пределы обнаружения порядка  $10^{-3}$ – $10^{-5}$  мг/дм<sup>3</sup>. Достоинства – относительно низкая стоимость, простота выполнения анализа, производительность и не высокие требования к обслуживанию. Данный метод зачастую применяется для определения щелочных металлов в биообъектах [30, 31], например, исследователями [32] успешно проведены исследования по определению лития в почках и печени человека.

В последние десятилетие для анализа объектов животного и растительного происхождения, используемых в медицине, стал применяться метод ДАЭС с МАЭС – это один из наиболее информативных многоэлементных методов анализа. Диапазон определения массовой концентрации элементов лежит в интервале от  $10^{-7}$  до 100 %. Предел допустимого СКО определения массовой концентрации химических элементов не превышает 10 %. Систематическая погрешности обнаружения массовой концентрации элементов не более 20 % [33]. Так, исследователи [34], успешно определяют содержание кальция, магния, железа, меди, цинка и фосфора в сыворотке крови, а также в других жидких биопробах [35–37]. Кроме того,

метод относительно дешёв по аппаратному оформлению в сравнении с методами ИСП–МС и ИСП–АЭС.

К настоящему времени исследователям стал доступен широкий спектр современных аналитических методов, позволяющих создавать новые методики исследования, подходы к установлению элементного состава живых организмов. Анализ волос на большой круг химических элементов стал одним из примеров успешного и востребованного применения неинвазивной оценки элементного статуса человека.

## Глава 2 Объекты и методы исследования

### 2.1 Объекты исследований

#### 2.1.1 Биосубстраты (волосы)

Среди известных биологических субстратов волосы, как объект исследования, обладают рядом преимуществ. Волосы представляют собой прочную ткань, которая не подвергается биологическим изменениям. Кератиновая наружная оболочка волоса полностью препятствует как потере внутренних компонентов, так и проникновению внутрь внешних загрязнений. Это обеспечивает постоянство химического состава. Волосы дают возможность получения информации обо всех элементах, содержащихся в организме, за достаточно продолжительный период времени, а также они содержат более высокую концентрацию микроэлементов по сравнению с другими биосубстратами. Волос состоит из большого количества цистеина, обладающего, благодаря наличию тиоловой группы, хелатирующими свойствами по отношению к элементам переходных металлов. Поэтому концентрация микроэлементов в волосах примерно в пятьдесят раз выше, чем в крови и моче [38]. Волосы, в отличие от крови или мочи, гораздо меньше зависят от систем, регулирующих гомеостаз (стремление системы воспроизводить себя, восстанавливать утраченное равновесие, преодолевать сопротивление внешней среды). Благодаря этой особенности можно получить информацию о дефиците веществ прежде, чем возникнет заболевание. Многие токсические элементы (Al, Ba, As, Cd, Pb) быстро покидают кровяное русло, перемещаясь и накапливаясь в тканях. Обнаружение накопления этих токсических элементов в волосах или ногтях может оказаться единственной возможностью установления факта интоксикации. Неинвазивность и простота обращения являются несомненным преимуществом данного биосубстрата. Проба может быть получена без травмирования пациента, а хранение и транспортировка материала не требуют специального оборудования: волосы не портятся и сохраняются без ограничения времени. Очень перспективно использование проб волос в качестве архивного материала для исторического биомониторинга [39].

В современной практике диагностики макро- и микроэлементов в организме человека существуют методы их определения в цельной крови, моче, волосах, слюне, зубном дентине и костной ткани. Благодаря простоте отбора проб и доступности биоматериала, элементный анализ волос в настоящее время стал наиболее приемлемым способом донозологического мониторинга, т.е. методом динамической оценки состояния регуляторных систем, выявления

самых начальных проявлений перенапряжения как в целостном организме, так и в отдельных органах и системах. В литературе описаны исследования, в которых выявлены четкие корреляции между содержанием тяжелых металлов в волосах и других биосубстратах, таких как печень, слюна, кровь и моча, причем результаты анализа волос по содержанию тяжелых металлов уступают лишь результатам содержания их в печени [40]. Большой интерес представляет мультиэлементный анализ волос для выявления состояния обмена микроэлементов в организме, так как обмен неорганических соединений, в частности катионов металлов (макро и микроэлементов), связан с ферментативными реакциями организма. Метаболизм макро- и микроэлементов регулируется органическими компонентами. Он играет решающую роль в метаболических процессах и зависит от работоспособности гормональной и нервной систем [41, 42].

Такой анализ необходим в решении проблем, связанных с возрастанием числа онкологических, сердечно-сосудистых, нервно-психических заболеваний в определенных регионах и среди различных профессиональных, социальных и возрастных групп населения. Так же анализ волос в последние годы нашел применение как тест объект для оценки поведенческих особенностей человека [43].

### 2.1.2 Лекарственные растения (*Agrimonia pilosa*)

Растения являются лучшими природными источниками макро- и микроэлементов, так как в них элементы образуют комплексные и металлоорганические соединения, что обуславливает их функциональную активность, содействует лучшей усвояемости организмом человека. Микроэлементы несут определяющую роль в биогенезе биологически активных веществ. Элементный состав растений необходимо рассматривать как важную составную часть лекарственных средств, получаемых из растительного сырья. Микроэлементный состав растений определяется наличием элементов в субстрате и физиологическими особенностями минерального питания растений [44]. Исследование химического, а в частности элементного состава растений требуется для более полной характеристики нахождения химических элементов в ландшафтах различного происхождения, так как растения – важное звено биологического круговорота веществ. На практике информация о химическом составе растений может быть полезна для сбалансированного питания человека и для профилактики и лечения различного рода заболеваний, связанных с дисэлементозами [45]. В состав растений входит около 80 элементов Периодической системы Д.И. Менделеева, однако показано, что

биологически ценны лишь биогенные элементы, входящие в состав пищевых продуктов, лекарственного растительного сырья и продуктов их переработки. К биогенным элементам отнесены: K, Na, Mg, Ca, P, N, O, C, Cl, Fe, Mn, Zn, Co, V, Cr, Ni, Cu, Mo, I, Se, Si, F, Br, As [48]. Изучение элементного состава лекарственных растений является востребованным, так как макро- и микроэлементы, входящие в состав исследуемого растения, оказывают существенное влияние на проявление биологической активности [46]. Особый интерес представляет репейничек волосистый (*Agrimonia pilosa* Ledeb.) сем. Rosaceae – многолетнее травянистое растение, имеющие довольно широкий круг произрастания. В традиционной и народной медицине все части растения используются при лечении и профилактике большого числа заболеваний [47]. В европейских странах виды *Agrimonia* являются официальными лекарственными растениями и успешно применяются в практической медицине [48].

Данное растение привлекает внимание исследователей. Экспериментально доказано, что данный вид обладает антиоксидантной [49], противовирусной [50], сосудорасширяющей [51], гепатопротекторной [52], противораковой [53], иммуномоделирующей [54], антибактериальной [55] активностью, улучшает реологические свойства крови [56], восстанавливает нарушенный в мозге подопытных крыс при экспериментальном гепатите баланс ионов натрия, кальция и калия [57]. Такой значительный спектр биоактивности говорит о наличии комплекса биологически активных веществ. В надземной части *A. pilosa* выявлены вещества фенольной природы (кумарины, флавоноиды, оксикоричные кислоты, дубильные вещества, изокумарины, тритерпеноиды, эфирное масло, полисахариды и др. [58–65]. В подземных частях растения обнаружены Cu, Zn, Fe, V, Ni, Cr, Ti, Mn, Sr, Zr, Ag [66].

В литературе также имеются данные о том, что *Agrimonia pilosa* проявляет способность избирательно накапливать литий, тем самым являясь концентратором этого элемента, что представляет большой интерес, так как литий является основным составляющим лекарственных препаратов, которые снижают скорость образования амилоидных бляшек при болезни Альцгеймера. Это свойство делает литий ценным терапевтическим агентом для профилактики и лечения болезни Альцгеймера [67]. Литий так же применяется в психиатрической практике в качестве средства для лечения биполярных и маниакальных расстройств, в том числе и рецидивирующих, механизм действия его связан с уменьшением возбуждающего влияния нейротрансмиттеров: дофамина и глутамата [68]. Антидепрессивный эффект лития при хроническом стрессовом воздействии сопоставим с трициклическими антидепрессантами [69]. При всех достоинствах, которыми обладает литий, применение лекарств на его основе ограничено, так как они представлены неорганическими солями, которые достаточно токсичны. Пищевые отравления литием наблюдаются достаточно редко, чаще они встречаются при отравлении препаратами лития в психиатрической практике.

Токсические эффекты солей лития начинают проявляться при концентрации лития в плазме крови свыше 10 мкг/л. «Мишенями» вредного воздействия лития являются кожа и слизистые оболочки ЖКТ (токсический дерматит, тошнота, рвота, диарея), дыхательные пути (трахеит, бронхит, пневмония), ЦНС (спутанность сознания, кома). В обменных процессах литий активно взаимодействует с ионами натрия и калия, но назначение препаратов лития на фоне дефицита натрия опасно для здоровья, так как может вызывать поражение почек [70]. Поэтому изучение лекарственных растений – природных концентраторов лития и создание препаратов на их основе в настоящее время представляет значительный интерес.

### 2.1.3 Подопытные животные

Основные лабораторные животные, используемые в большинстве медицинских исследований это грызуны. При моделировании каких-либо эффектов химических веществ наиболее часто используются такие грызуны, как мыши, крысы, морские свинки, кролики. Белые лабораторные мыши, являющиеся альбиносами домашней серой мыши, используются чаще других для определения токсичности химических веществ, стандартизации фармакологических препаратов. Морские свинки являются классическим объектом для изучения аллергенности химических веществ, а также проявлений авитаминозов. Изолированные органы этих животных применяются в фармакологических исследованиях. Кролики в связи с особенностями протекания у них овуляторного цикла и высокой скоростью размножения удобны для выявления воздействия токсических и других веществ на репродуктивные функции.

Лабораторные крысы (альбиносы черной и серой крыс) являются наиболее распространенным видом экспериментальных животных. Крысы, используемые в эксперименте, относятся к роду *Rattus*, семейство мышевидных *Muridae*. В практике применение крыс для тестирования различных лекарственных средств и изучения их поведения в тех или иных условиях занимает значительное место. Существует большое число видов специально выведенных крыс для решения определенных задач [71]. Удобство использования крыс для исследования различных эффектов химических и биологических препаратов объясняется простотой их содержания, возможностью размещения на сравнительно небольшой территории достаточного количества животных, небольшим весом, устойчивостью к инфекционным заболеваниям, большим приплодом, который они дают. Крыс легко фиксировать рукой, а постоянная наполненность желудка пищей при обычном

режиме питания позволяет вводить им интрагастрально достаточные дозы фармагентов, не вызывая катаральных изменений слизистой. Предпочтение в большинстве проводимых исследований отдается самцам, так как они не имеют гормональных колебаний, способных оказывать влияние на мембранотропное действие препаратов. Целесообразнее использование молодых животных, поскольку у них меньше толерантность к различным токсическим веществам.

Геном крыс имеет до 90 % сходства с геномом *Homo sapiens* и лишь 10 % генов отделяют нас от крысы. Но это очень значимая разница. Например, у крыс много сильнее развита система утилизации токсинов, защита организма от ядов. Поэтому от крыс так трудно избавиться. Они зачастую нечувствительны к ядам и стремительно развивают устойчивость к новым токсикантам. Именно поэтому лекарственные препараты, признанные безопасными в опытах на крысах, требуют дальнейших исследований на человеке.

## 2.2 Методы исследования

### 2.2.1 Дуговая атомно-эмиссионная спектрометрия с многоканальным анализатором эмиссионных спектров

Методом ДАЭС называют метод исследования элементного (качественного и количественного) состава вещества по спектру излучения атомов, где в качестве источника возбуждения используется дуговой разряд. Для качественного определения достаточно удостовериться в наличии/отсутствии их линий в спектрах проб. При количественном анализе проводят сравнение интенсивностей спектральных линий определяемых элементов с интенсивностью тех же самых линий в спектрах стандартных образцов, содержащих определяемые элементы в известных концентрациях.

Для получения атомного спектра вещество испаряют в источниках света (в пламени, электрической дуге и др.). При высокой температуре происходит плавление, испарение твёрдого вещества и наблюдается свечение его паров. Свет, излучаемый возбуждёнными атомами вещества, при помощи спектрального прибора разлагается в линейчатый спектр. В основу количественного атомно эмиссионного анализа положено уравнение Больцмана для интенсивности спектральных линий (1).

$$I_{mn} = A_{mn} \cdot N_0 \cdot \frac{q_m}{q_n} \cdot e^{-(E_m - E_n)/kT} \cdot h\nu_{mn}. \quad (1)$$



где  $I_{mn}$  – интенсивность линии при переходе электрона с уровня  $m$  на уровень  $n$ ;  
 $N_0$  – концентрация атомов в основном состоянии;  
 $q_m, q_n$  – статистические веса, характеризующие степень вырождения соответствующих уровней;  
 $E_m$  и  $E_n$  – энергии уровней  $m$  и  $n$ ;  
 $A_{mn}$  – вероятность спонтанного испускания при переходе с уровня  $m$  на уровень  $n$ ;  
 $h\nu_{mn}$  – энергия кванта;  
 $T$  – равновесная температура, К;  
 $k$  – постоянная Больцмана  $1,3807 \cdot 10^{-23}$  Дж·К<sup>-1</sup>.

В стационарном состоянии:

$$N_0 = a \cdot c. \quad (2)$$

С учетом уравнения (2) уравнение (1) примет вид:

$$I_{mn} = a \cdot c \cdot A_{mn} \cdot N_0 \cdot \frac{q_m}{q_n} \cdot e^{-(E_m - E_n)/kT} \cdot h\nu_{mn}. \quad (3)$$

При постоянстве температуры и других условий возбуждения уравнение (3) принимает вид:

$$I_{mn} = a' \cdot c \quad (4)$$

где,  $a'$  – коэффициент, зависящий от условий поступления вещества в плазму и констант характеризующих возбуждение и последующие переходы, параметров разряда.

Но не все кванты, испускаемые возбужденными частицами, доходят до приемника света. Их часть может быть поглощена невозбужденными атомами. Это процесс *самопоглощения*, он учитывается в уравнении *Ломакина-Шайбе*:

$$I_{mn} = a' \cdot c^b \quad (5)$$

где  $b$  – коэффициент самопоглощения

Прологарифмировав уравнение (5), получаем

$$\lg I_{mn} = \lg a' \cdot b \cdot \lg c \quad (6)$$

Уравнение (6) является основой количественного спектрального анализа.

Интенсивность спектральных линий зависит от ряда неконтролируемых факторов (колебания напряжения в сети, изменения расстояния между электродами, изменения условий испарения пробы и т.д.). В связи с этим, в основе большинства современных методов количественного анализа лежит измерение относительной интенсивности спектральных линий определяемого элемента и элемента сравнения, находящегося в той же пробе в постоянной концентрации. Обозначив интенсивности линий определяемого элемента и элемента сравнения  $I_1$  и  $I_2$ , соответственно, можно найти их отношение с учетом уравнения Ломакина-Шайбе (5)

$$\frac{I_1}{I_2} = \frac{a_1 \cdot c_1^{b_1}}{a_2 \cdot c_2^{b_2}}. \quad (7)$$

При условии  $a_1 = a_2$ ,  $b_1 = b_2$  и  $c = const$  (это необходимое требование при использовании элемента сравнения), соотношение (7) принимает вид:

$$\frac{I_1}{I_2} = a' \cdot c^b \quad \text{или} \quad \lg \frac{I_1}{I_2} = \lg a' \cdot b \cdot \lg c, \quad (8)$$

$$\text{где} \quad a' = \frac{a_1}{a_2 \cdot c_2^b} \quad (9)$$

Из-за сложности и индивидуальности процессов конкретный вид зависимости и соответствующих градуировочных графиков устанавливаются с помощью стандартных образцов (СО), матричный состав которых идентичен или близок к таковому в анализируемых пробах [72]. Для атомно-эмиссионного анализа в настоящее время в нашей стране имеется большое количество оборудования, которое может быть использовано для аналитических целей. Примером нового спектрального прибора, является стационарный светосильный многоканальный спектрометр высокого разрешения «Гранд» [73, 74].

Он создан по оптической схеме Пашена-Рунге, имеет неклассическую вогнутую дифракционную решётку и две многокристальные сборки с 12-ю и 8-ю линейками фотодиодов, установленных по дуге с радиусом 500 мм (рисунок 1) Спектрометр рассчитан для работы в диапазоне 190–470 нм.

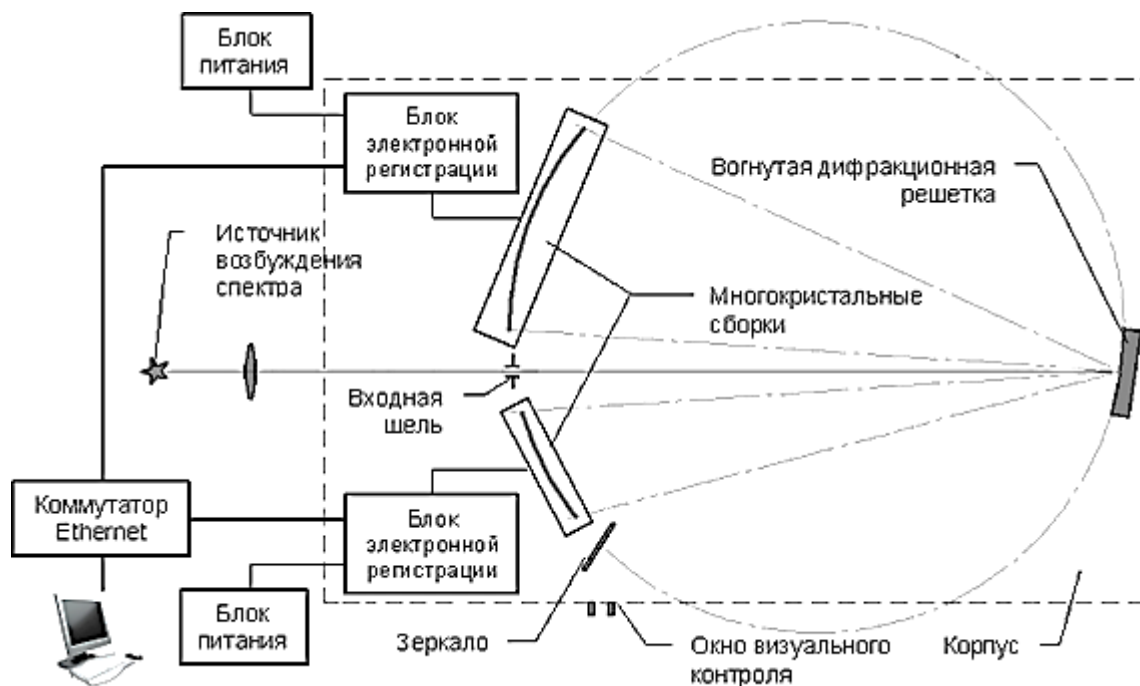


Рисунок 1 – Принципиальная схема спектрометра «Гранд»

Для разложения в спектр оптического излучения, возбужденного в источнике света, используются оптические спектральные приборы (МАЭС) с многоэлементными твердотельными полупроводниковыми детекторами (ТТД) в качестве регистрирующего устройства. Они служат для одновременного измерения интенсивностей во всей области спектра от 190 до 1100 нм. Многоканальный анализатор эмиссионных спектров в основе которого лежит многокристальная сборка линеек фотодиодов (массивы фотодиодов, диодные линейки) применяются с различными источниками возбуждения излучения – дугой постоянного и переменного тока, лазером, искрой, индуктивно связанной плазмой, дуговым плазмотроном и разными спектральными приборами – призменными и дифракционными, отечественными и зарубежными. В 2001 г. он включен в Государственный реестр средств измерений РФ под № 21013-01 [75].

Применение МАЭС в качестве системы регистрации спектров даёт возможность корректного сравнения таких характеристик спектральных приборов, как спектральный диапазон и разрешение. Известно, что ширина спектральных линий атомно-эмиссионных спектров, возбуждаемых в электрической дуге, составляет 0,001–0,002 нм, что существенно меньше пределов разрешения спектральных приборов, применяемых в АЭС. Поэтому ширина спектральных линий, зарегистрированных такими приборами, определяется их разрешением. Программа «Атом» обеспечивает оценку спектрального разрешения, характеризуемого шириной спектральной линии на полувысоте, в реальном времени. Использование спектрометров с МАЭС открывает широкие возможности количественного спектрального анализа. Среди них – широкий круг объектов анализа и определяемых элементов, низкие пределы обнаружения элементов и широкий диапазон рабочих концентраций, низкие погрешности анализа, автоматизация использования табличных данных и создание баз данных результатов. Аналитик может провести детальное изучение контура и окрестностей спектральной линии, получить максимальную информацию о спектральных [76] и не спектральных влияниях.

Современные быстродействующие многоканальные спектрометры, оснащенные управляющими ЭВМ с большим объемом памяти, обеспечивают автоматизацию всех аналитических операций, включая последовательную подачу серии проб и эталонов в ИВС, возбуждение их спектров, регистрацию аналитических сигналов, вычисление и выдачу результатов количественных определений элементов. На рисунке 2 представлена структурная схема многоканального анализатора [77], которая включает многокристальную сборку; блок электронной регистрации; блок питания и компьютер.

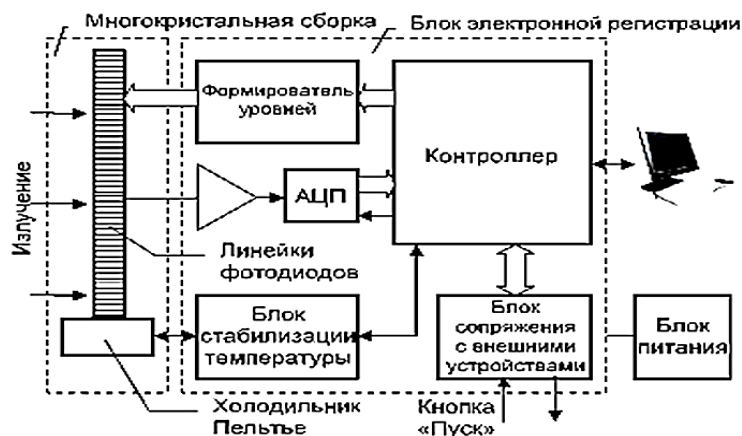


Рисунок 2 – Структурная схема анализатора МАЭС

Достоинства метода ДАЭС с МАЭС:

- возможность одновременного количественного определения значительного числа элементов в широком интервале концентраций с приемлемой точностью при использовании малой массы пробы;
- универсальность методических приемов при анализе различных веществ;
- экспрессность анализа, сравнительная простота, доступность и относительная дешевизна аппаратуры;
- высокий уровень автоматизации ДАЭС с МАЭС позволяет включать этот метод в автоматизированные системы аналитического контроля и управления технологией производства.

### 2.2.2 Метод пламенной фотометрии

Метод пламенной фотометрии – разновидность эмиссионного спектрального анализа. В данном методе источником возбуждения является пламя, в котором происходит термическое возбуждение атомов. Излучение света в пламени описывается выражением, вытекающим из уравнения Больцмана (1). Из него следует эмпирическая зависимость, предложенная Ломакиным – Шайбе (5). Так как температура пламени не высока, данный метод применяют для определения щелочных элементов и щелочноземельных элементов.

Данный метод обладает достаточно низкими пределами обнаружения элементов: 0,01–0,1 мг/дм<sup>3</sup>, а устойчивая плазма определяет хорошую воспроизводимость результатов измерений, при этом относительная погрешность анализа ( $\delta$ ) составляет 2–4 % отн.

По аппаратурному оформлению и условиям технической эксплуатации метод пламенной фотометрии прост и в основном использует два класса приборов: пламенные фотометры и пламенные спектрофотометры. Независимо от конструктивных особенностей в любом приборе имеются 3 основных узла:

- а) возбуждения (горелка, распылительная система);
- б) выделения (монохроматор);
- в) детектирования и регистрации сигнала (фотоэлементы, фотоумножители, электрические приборы для получения сигнала или непосредственной записи измерений).

Схема пламенного фотометра представлена на рисунке 3. Анализируемый раствор через капилляр (1) под действием сжатого воздуха от компрессора (2) всасывается в распылитель (3) и в виде мелкодисперсного аэрозоля поступает в пламя горелки (5), предварительно смешиваясь с горючим газом. Конденсат выводится из распылителя и собирается в сосуде (4). Возбужденные в пламени атомы элементов излучают свет определенной длины волны. Для устранения мешающего влияния излучения других элементов в приборе служит монохроматор (6), позволяющий выделить из общего светового потока излучение определяемого элемента. Монохроматический световой поток, попадая на фотоэлемент (7), вызывает фототок, интенсивность которого регистрирует микроамперметр (8). Измеряемая прибором величина – интенсивность излучения  $I$ , мкА.

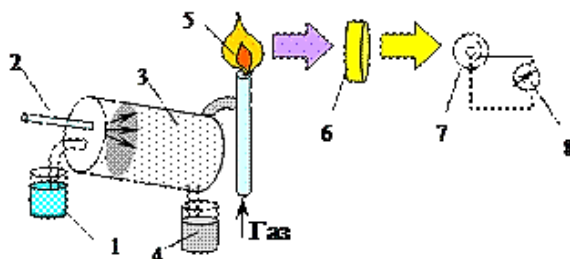


Рисунок 3 - Схема пламенного фотометра: 1 – сосуд с анализируемым раствором; 2 – трубопровод от компрессора; 3 – распылитель; 4 – сосуд с конденсатом; 5 – пламя; 6 – светофильтр; 7 – фотоэлемент; 8 – микроамперметр.

Спектры испускания в пламенах состоят из небольшого числа спектральных линий, главным образом резонансных, что позволяет выделять характеристическое излучение элементов при помощи светофильтров и использовать простые спектральные приборы – пламенные фотометры. Они компактны и удобны для работы. Их применяют для определения небольшого количества элементов (калий, натрий, кальций, литий), имеющих достаточно чувствительные линии в видимой области спектра и низкие потенциалы возбуждения [78].

В настоящей работе использовался спектрометр марки «SOLAAR серии S» производства «Thermoelectron» (США) с пламенным атомизатором с усиленной дейтериевой коррекцией фона в режиме эмиссии.

### 2.2.3 Метод атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС)

ААС – это метод количественного элементного анализа, основанный на переводе анализируемого образца в атомный пар и измерении поглощения этим паром монохроматического излучения, энергия кванта ( $h\nu$ ) которого соответствует резонансному переходу в атомах определяемого элемента [79]. При этом атомы переходят из невозбужденного состояния на ближайший более высокий энергетический уровень (возбужденный).

Атомное поглощение характеризуется экспоненциальным законом убывания интенсивности проходящего светового потока в зависимости от длины поглощающего слоя, концентрации поглощающих атомов. Эта зависимость аналогична закону Бугера-Ламберта-Бера:

$$A = -\lg \frac{I}{I_0} = \varepsilon \cdot l \cdot c, \quad (10)$$

где:  $A$  – абсорбция или оптическая плотность;

$I_0$  – интенсивность падающего потока излучения;

$I$  – интенсивность потока излучения после прохождения поглощающего слоя;

$c$  – молярная концентрация;

$\varepsilon$  – молярный коэффициент поглощения.

Приборы для данного метода – атомно-абсорбционные спектрометры – высокоавтоматизированные устройства, обеспечивающие воспроизводимость условий измерений, автоматическую регистрацию результатов измерения и введение проб [80]. В качестве источников света в атомно-абсорбционном анализе используют источники, излучающие узкие полосы спектра. К таким источникам относятся газоразрядные лампы, лампы с полым катодом и высокочастотные безэлектродные лампы. С одной стороны, необходимость иметь на каждый определяемый элемент свою отдельную лампу усложняет процедуру анализа, но с другой стороны, исключительно тонкие линии атомного поглощения обеспечивают высокую селективность метода. Существует 4 типа техники атомизации [81]. Большую чувствительность в ААС имеют приборы с электротермической атомизацией, где

проба остается в замкнутом объеме кюветы, а не уносится газовым потоком, поэтому, большее количество атомов пробы поглощают излучение лампы и чувствительность определения возрастает на 2–3 порядка.

Для проведения исследований использован спектрометр марки «SOLAAR серии S» производства «Thermoelectron» (США) с пламенным атомизатором, в основе которого лежит двухлучевая схема. Прибор имеет шестилампную вращающуюся турель, дейтериевую лампу, систему для работы в пламени с универсальной горелкой для всех типов пламен, тефлоновый распылитель. Автоматический монохроматор с дифракционной решеткой и полной температурной компенсацией обеспечивает работу спектрометра в диапазоне 180–900 нм.

Атомно-абсорбционный спектрометр «SOLAAR серии S» совмещен с компьютером. Программный пакет «SOLAAR» работает в среде MS Windows 2000/XP и обеспечивает автоматическое управление прибором. Программа «SOLAAR» оптимизирует параметры прибора, гарантирует высокоточную идентификацию спектральных линий элементов, проводит построение градуировок, устанавливает содержание контролируемых элементов, проводит всестороннюю статистическую обработку градуировочных графиков и результатов анализа с отбраковкой грубых промахов по заданным статистическим критериям.

Достоинства метода:

- Высокая избирательность определения индивидуальных элементов.
- Высокая чувствительность (низкое содержание вещества в исследуемой пробе:  $10^{-1}$ – $10^{-4}$  мг/л).
- Хорошая воспроизводимость (относительное стандартное отклонение 0,01 %).
- Большая производительность (до 500 определений в час).
- Этот метод дает возможность определять до 70 элементов, для большинства определяемых элементов (около 40) возможно достижение относительно низких пределов обнаружения.

Недостатки ААС: одноэлементный характер анализа, требующий дополнительных комплектующих и расходных материалов (графитовые кюветы, источники возбуждения).

#### 2.2.4 Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой

Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой является современным методом определения малых (мкг/кг) и сверхмалых (нг/кг и менее) (содержаний) элементов, а также их изотопного состава в различных объектах [82]. Метод позволяет проводить определение

практически всех элементов периодической системы в одной пробе. Он основан на использовании индуктивно-связанной плазмы в качестве источника ионов и масс-спектрометра для их разделения и детектирования.

Объекты исследования в ИСП-МС – водные растворы. Твердые пробы переводят в раствор используя кислоты (например, азотная кислота (2–5 %) и затем анализируют. Возможен и анализ твердых образцов с применением устройства лазерного пробоотбора (лазерная абляция – испарение вещества с поверхности твердой пробы и переноса аэрозоля потоком газа в масс-спектрометр для дальнейшего анализа) [83, 84].

В общем случае исследуемый раствор с помощью перистальтического насоса (маленький насос с набором маленьких вращающихся цилиндров) подается в распылитель, в нем потоком аргона преобразуется в аэрозоль [85], затем он попадает в распылительную камеру, в ней отсеиваются крупные капли. Далее аэрозоль через центральный канал плазменной горелки попадает в плазму, в ней под действием высокой температуры (7000–8000 К) вещества пробы диссоциируют на атомы, которые ионизируются. Затем через систему ионной оптики попадают в анализатор, где ионы фильтруются по массе и детектируются. Полученный сигнал трансформируется в зависимость интенсивности от величины  $m/z$ .

Кроме ионизации в плазме имеют место быть и другие процессы: взаимодействие ионов и атомов между собой, вторичная ионизация, рекомбинация и т.д. [86]. Эти процессы во многом зависят от состава образца и условий проведения эксперимента. Образование посторонних (мешающих) ионов (оксидов, гидридов, двухзарядных и т.д.) является основной проблемой масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой, поскольку создает наложение сигналов мешающих ионов на сигналы аналитов [87].

В данной работе использовался масс-спектрометр Agilent 7500 cx (Agilent Technologies, США). Он предназначен для решения широкого круга задач в различных областях: определение содержания элементов в объектах любого состава и происхождения, контроль за состоянием окружающей среды, медицинские исследования, контроль качества пищевой продукции. В состав масс-спектрометра входят: устройство ввода пробы, источник индуктивно связанной плазмы, система ионных линз, квадрупольный масс-спектрометр, детектор и система управления и обработки данных ISP-MS ChemStation. Относительное СКО случайной составляющей погрешности результатов измерений аналитического сигнала массовых пиков Li(7), Y(89), Tl(205) за 20 мин работы, не более 3 % [88].



## 2.2.5 ИК-спектроскопия

Инфракрасная спектроскопия (ИК спектроскопия) – раздел молекулярной оптической спектроскопии, изучающий спектры поглощения и отражения электромагнитного излучения в инфракрасной области, т.е. в диапазоне длин волн от  $10^{-6}$  до  $10^{-3}$  м. Основана на поглощении химическими веществами инфракрасного излучения с одновременным возбуждением колебаний молекул [89].

Спектральные характеристики (положения максимумов полос, их полуширина, интенсивность) индивидуальной молекулы зависят от масс составляющих ее атомов, геометрического строения, особенностей межатомных сил, распределения заряда и др.

В ИК-спектроскопии очень важным является понятие характеристичности нормальных (нормальные колебания – независимые повторяющиеся сами по себе движения молекулы) колебаний, т.е. соответствия их определенным группам атомов. Характеристичным по частоте является нормальное колебание атомной группировки, частота которого сохраняется постоянной для ряда структурно родственных молекул, содержащих данную группировку. Характеристичность по частоте проявляют колебания многих групп в органических соединениях, например, C=O, C=C, O–H, C–H и др. Именно характеристичность колебаний позволяет использовать ИК-спектроскопию для идентификации органических соединений. Нормальные колебания подразделяются на валентные ( $\nu$ ) и деформационные ( $\delta$ ). В случае валентных колебаний происходит изменение длины связи вдоль ее оси, при этом различают валентные симметричные и асимметричные колебания (рисунок 5 а, б). Деформационные колебания сопровождаются изменением угла между связями (рисунок 5, в) [90].

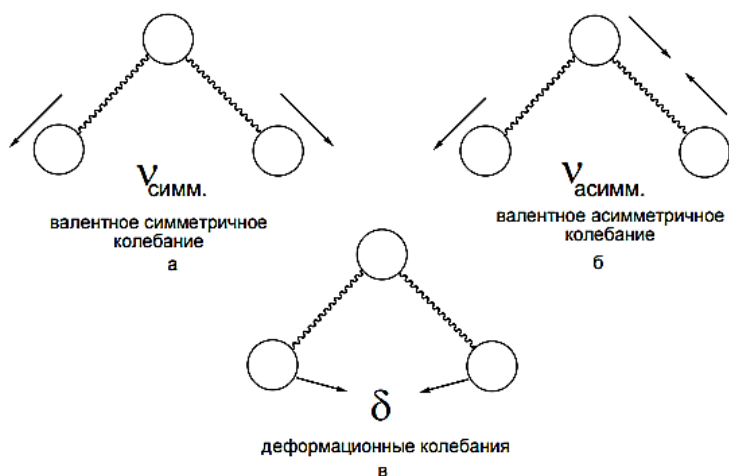


Рисунок 5 - Типы колебаний

В данной работе был использован Фурье спектрометр «Nicolet 6700». В основе действия Фурье-спектрометров лежит явление интерференции электромагнитного излучения

[91]. Основным компонентом Фурье-ИК-спектрометров является интерферометр Майкельсона, в котором одно из зеркал выполнено подвижным, что позволяет варьировать разницу хода лучей. Смещение зеркала производится механическим приводом, управляемым ЭВМ [92]. Фурье-спектроскопия имеет ряд существенных достоинств [93]. Во-первых, это выигрыш в энергии за счет того, что при сканировании в каждый момент времени на приемник попадает излучение всего исследуемого спектрального диапазона длин волн, а не узкий его участок, определяемый в монохроматоре обычного прибора диспергирующей системой и щелями. Во-вторых, большой выигрыш дает возможность повышения разрешающей силы интерферометра без уменьшения потока лучистой энергии. В интерферометрах проще, чем в дифракционных спектрометрах, осуществляется фильтрация излучения нужного спектрального диапазона, т.е. значительно упрощается проблема устранения паразитного, или рассеянного света. Указанные преимущества обеспечивают такие достоинства Фурье-спектроскопии как: очень высокая чувствительность и точность измерений интенсивности, особенно при многократном сканировании и накоплении сигнала, очень высокое разрешение (до  $10^{-2}$  см<sup>-1</sup>) и высокая точность определения волновых чисел, быстроедействие, т. е. возможность быстрого исследования широкой спектральной области (время сканирования для интервала в несколько сотен см<sup>-1</sup> составляет <1 с).

При использовании инфракрасной спектроскопии для определения состава природных смесей не происходит разрушение веществ, этот метод позволяет изучать образец в целом, без предварительных химических обработок, а также использовать малые (до 10 мг) навески, что позволяет применять их для последующих исследований.

## 2.2.6 Рентгенофазовый анализ (РФА)

Рентгенофазовый анализ (РФА) – один из современных физических, спектроскопических методов исследования вещества, относится к инструментальным методам определения элементного состава и позволяет определять валовые содержания элементов в диапазоне от В до U, безотносительно от формы их нахождения в веществе [94]. Этот метод позволяет производить не только качественный и количественный фазовый анализы сложных по составу материалов, но и определять строение кристаллической решетки индивидуальных соединений. Как метод фазового анализа он особенно полезен при

исследовании твердых растворов, явлений полиморфизма, процессов распада и синтеза новых соединений.

Метод РФА основан на сборе и последующем анализе спектра, полученного путём воздействия на исследуемый материал рентгеновским излучением. При падении рентгеновских лучей на кристалл происходит их дифракция: каждый атом, на который падает рентгеновский луч, становится вторичной волной [95]. Условие возникновения дифракционного максимума имеет вид:

$$n\lambda = 2d \cdot \sin\theta, \quad (11)$$

где  $d$  – межплоскостное расстояние, Å или нм;

$\theta$  – угол между направлением луча и отражающими плоскостями кристалла (угол дифракции или угол скольжения), °;

$\lambda$  – длина волны рентгеновских лучей, Å или нм;

$n$  – порядок отражения (целое число 1, 2, 3, ...,  $n$ ).

Выражение (11) носит название уравнения Вульфа–Брегга и лежит в основе рентгенографического анализа.

Для получения дифракционной картины рентгенограммы в основном применяют немонахроматизированное излучение. В качестве источника излучения могут использоваться как рентгеновские трубки, так и изотопы каких-либо элементов. Рентгенограмма характеризует фазовый состав образца, причем каждая фаза обладает своей кристаллической решеткой и характеризуется только ей присущим набором межплоскостных расстояний  $d_{hkl}$ , которые определяются по формуле (11). Если исследуемый объект состоит из нескольких фаз, то каждой фазе будет соответствовать своя собственная дифракционная картина. В этом случае на рентгенограмме присутствуют пики всех фаз образца. Интенсивность рефлексов каждой фазы будет зависеть от ее количества в исследуемой смеси и степени кристаллизации. На рисунке 6 показан фрагмент рентгendifракционного спектра, где: а – реальный спектр (штриховой линией показаны уровень фона и разделение наложенных линий на компоненты), б – штрих-диаграмма, в – модельное представление линий спектра в виде треугольных распределений.

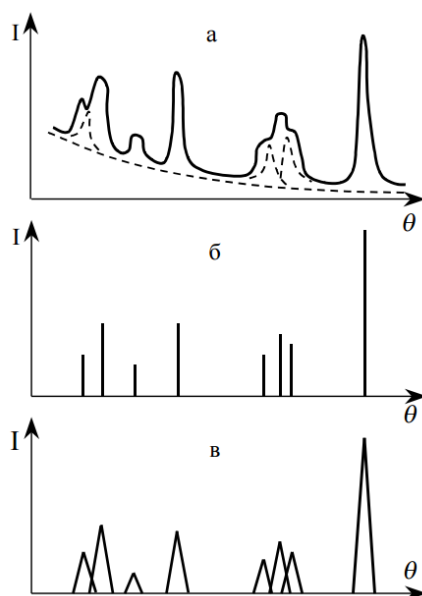


Рисунок 6 - Рентген дифракционный спектр

Определение фазового состава изучаемого вещества проводят путем сравнения экспериментального набора значений  $2\theta$ ,  $d_{hkl}$  и  $I/I_0$ , найденных из рентгеновских спектров, с табличными значениями  $d_{hkl}$  и  $I/I_0$ , которые представлены в картотеке.

В данной работе использовали дифрактометр рентгеновский Rigaku (Япония) «MiniFlex 600» с использованием  $\text{CuK}\alpha$  – излучения, для интерпретации полученных результатов применяли базу данных JSPDS. Он представляет собой настольный лабораторный прибор, состоящий из основного шкафа, включающего источник рентгеновского излучения, гониометр, систему регистрации рассеянного излучения, системы охлаждения, персонального компьютера, трансформатора. Дифрактометр снабжен рентгеновской трубкой (600 Вт) с медным анодом, вертикальным рентгеновским гониометром с зависимой схемой сканирования  $\Theta$ - $2\Theta$ , системой регистрации, включающей сцинтилляционный и полупроводниковый детекторы. Управление измерениями и обработка данных осуществляется с помощью персонального компьютера с инсталлированным на нем специальным программным обеспечением.

При работе дифрактометра обеспечиваются безопасные условия труда оператора. При максимальных значениях напряжения и тока на рентгеновской трубке мощность эквивалентной дозы рентгеновского излучения в любой доступной точке на расстоянии 10 см от поверхности дифрактометра не превышает 1 мкЗв/ч.

Основные преимущества рентгенографического анализа заключаются в том, что исследуется само твердое тело в неизменном состоянии и результатом анализа является непосредственно определение вещества или его составляющих. С помощью рентгеновских лучей исследуется кристалл, т.е. само соединение; более того, в случае полиморфных тел

рентгеновские лучи дают возможность различить отдельные модификации, свойственные данному веществу (сера ромбическая и моноклинная, кальцит или арагонит). Для проведения рентгендифракционного исследования требуется очень небольшое количество вещества, которое в процессе проведения аналитической операции не разрушается.

### 2.2.7 Растровая электронная микроскопия с применением энергодисперсионного микроанализа

Электронная микроскопия — совокупность методов исследования с помощью электронных микроскопов микроструктур тел, их локального состава и локализованных на поверхностях или в микрообъемах тел электрических и магнитных полей. Сущность метода состоит в том, что поверхность массивного образца облучается и сканируется тонко сфокусированным (диаметром до 5–10 нм) пучком электронов – так называемым электронным зондом. Пучок электронов совершает возвратно-поступательное движение по линии или разворачивается в растр – совокупность близко расположенных параллельных линий, вдоль которых пучок электронов обегает выбранный для исследования участок поверхности. Изображение строится синхронно с разверткой зонда на образце таким образом, что каждому положению пучка на поверхности образца соответствует точка (пиксел) на мониторе микроскопа [96].

Основные преимущества РЭМ: неразрушающая методика (в общем случае не происходит нарушение структуры поверхности твердого тела), относительная простота подготовки образцов для анализа (по сравнению, например, с просвечивающей микроскопией), экспрессность (малое время, необходимое от момента загрузки образца в камеру до получения изображения), а также широкий спектр анализируемых твердых тел: от металлов и полупроводников, до диэлектриков, порошкообразных и биологических объектов. РЭМ можно использовать для исследования структуры сплавов, характера распределения частиц по форме и размерам, он позволяет изучать микротопографию (шероховатость) различных поверхностей материалов изделий. Микроскоп используемый совместно с приставкой для энергодисперсионного анализа дает возможность определять элементный состав исследуемого образца. Энергодисперсионный спектрометр (ЭДС) на данный момент является самой распространенной приставкой к электронным микроскопам. Он легко

устанавливается на колонну любого электронного микроскопа (растрового или просвечивающего) и позволяет решать примерно 90% всех задач микроанализа.

Принцип работы ЭДС заключается в следующем: пучок электронов падает на поверхность образца и взаимодействует с материалом, в результате чего возникает, в том числе, характеристическое рентгеновское излучение, которое регистрируется полупроводниковым детектором ЭДС. Система обработки сигнала затем разделяет рентгеновские фотоны по энергиям и, таким образом мы получаем полный спектр, по которому судим об элементном составе образца-мишени.

Главное преимущество элементного анализа с помощью электронных микроскопов – его высокая локальность. На сегодняшний день нет более локального метода элементного анализа. Однако, в силу рассеивания электронов пучка в образце, эффекта вторичной флуоресценции и т.п., минимальный размер анализируемой области составляет порядка 1 мкм, что на порядки больше, чем стандартное разрешение РЭМ изображения во вторичных электронах. Размер области генерации характеристического рентгена в образце (т.е. область анализа) зависит от тока пучка, от ускоряющего напряжения в нем, от материала образца (его среднего атомного номера) и его пористости. Тем не менее, локальность элементного анализа с использованием ЭДС не превышает 10 мкм, а в отдельных случаях может составлять и несколько десятков нанометров. Современный ЭДС состоит из детектора (кристалл кремния, охлаждаемый элементом Пельтье), системы усиления сигнала, системы регистрации и анализа спектра, а также управляющей системы на основе персонального компьютера.

Основным достоинством энергодисперсионного спектрометра является высокая скорость накопления спектра, возможность количественного анализа за 1 минуту и быстрое получение карт распределения элементов по площади образца. Основным недостатком – высокий предел обнаружения большинства элементов 0,1–0,5 % масс. [97].

Энергодисперсионный микроанализ широко применяется для определения элементного состава образцов практически во всех областях науки и промышленности: в горнодобывающей промышленности, машиностроении, металлургии, энергетике, полупроводниковой промышленности, ювелирном деле, полиграфии, криминалистике, геологии, физике, химии, биологии, экологии, археологии.

В данном исследовании использовался растровый электронный микроскоп Hitachi TM-3000 при ускоряющем напряжении 15 кВ, в условиях снятия зарядки с образца (электронная пушка:  $5 \cdot 10^{-2}$  Па; камера для образца: 30–50 Па), с приставкой для энергодисперсионного микроанализа – анализатор Quantax 70 – прибор, используемый для изучения поверхности и элементного состава образца. Позволяет проводить рентгеновское картирование, элементный

анализ по линии и мультиэлементный анализ в точке, а также качественный и количественный (безэталонный) анализ.

### 2.2.8 Дифференциально-термический анализ

Термический анализ – метод физико-химического анализа, основанный на регистрации тепловых эффектов превращений, протекающих в исследуемом образце в условиях программируемого изменения температуры. Он является одним из наиболее высокочувствительных и современных методов фазового анализа [98]. Дифференциально-термический анализ (ДТА) является разновидностью термического анализа, он заключается в одновременной регистрации температуры анализируемого образца и разности температур исследуемого вещества и эталона, находящихся в одинаковых тепловых условиях. В качестве эталона может служить вещество, не подвергающееся никаким превращениям при нагревании до требуемой температуры. В качестве таких веществ часто используются прокаленные  $Al_2O_3$  и  $MgO$ , а при низкотемпературных исследованиях (до  $500\text{ }^{\circ}C$ ) –  $NaCl$  и  $KCl$ . Кроме того, тепловые характеристики – теплоемкость и теплопроводность – эталонного и исследуемого веществ должны быть по возможности близки.

Для получения простой температурной кривой исследуемым материалом наполняют специальный тигель, который помещают в электропечь. Температуру материала измеряют с помощью термоэлектрического термометра, а изменение ЭДС в горячем спае фиксируют гальванометром. Результаты измерения температуры материала в процессе нагревания наносят на график «температура – время».

Если в веществе в процессе нагревания не происходит никаких реакций, связанных с изменением энергии системы, то простая температурная кривая имеет вид прямой, наклонной к оси абсцисс. Плавный ход этой прямой нарушается в случае протекания реакций, сопровождающихся выделением или поглощением тепла (рисунок 7). Отклонения носят временной характер и прекращаются по окончании реакции.

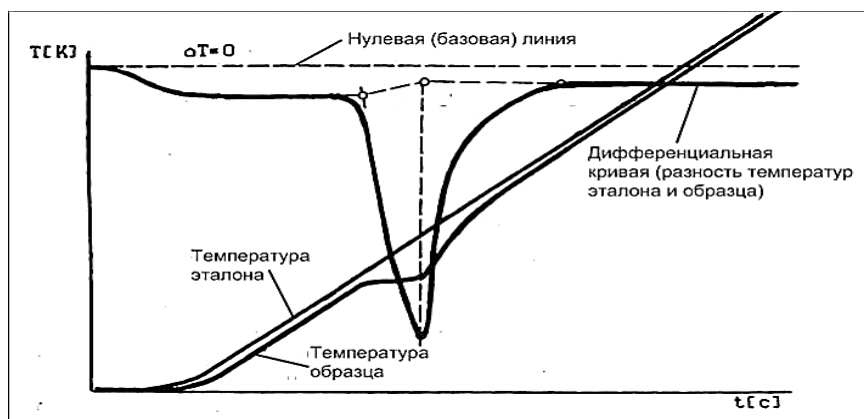


Рисунок 7 - Принципиальный вид термических кривых

Измерительная часть приборов для термического анализа по методу ДТА состоит обычно из трех термопар (рисунок 8). Одной из них (термопара №3) измеряется температура печи, а остальными двумя разность температур между печью и пробой.

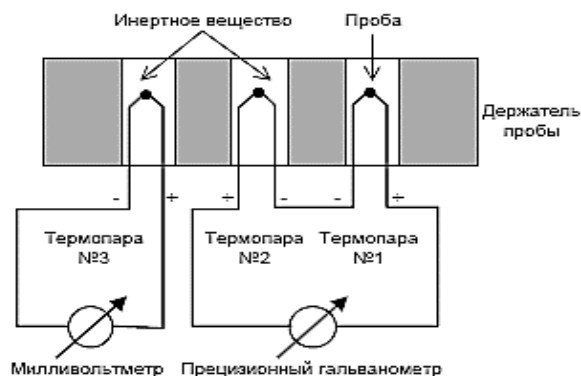


Рисунок 8 - Дифференциальная схема термического анализа

Держатель пробы нагревается с помощью регулируемой электрической печи. Если равномерно увеличивать температуру держателя, температура как пробы, так и инертного вещества равномерно повышается до тех пор, пока в исследуемом веществе не начнется химическая реакция или другое превращение с тепловым эффектом. С этого момента, в зависимости от того, является ли реакция экзотермической или эндотермической, начинается, соответственно, повышение или снижение температуры пробы. Разностный сигнал с термопар подается на регистрирующее устройство (фоторегистрирующие приборы-пирометр Курнакова, дериватограф и осциллографы), фиксирующее его величину через определенный временной интервал. Градуировка термограммы производится, обычно, по температурной кривой, измеренной в инертном материале и зафиксированной на том же регистраторе [99].

**Выводы:** выбранные методы исследования позволяют решить поставленные в работе задачи: установить природу концентратов, оценить наличие матричных влияний при анализе исследуемых объектов, предложить эффективные способы их устранения. Рассмотренные методы спектрального анализа положены в основу разработки аналитических подходов и создания многоэлементных методик анализа изучаемых объектов.



## Глава 3 Разработка методики выполнения измерений элементного состава волос методом дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии с многоканальным анализатором эмиссионных спектров

### 3.1 Пробоотбор и пробоподготовка волос для метода ДАЭС с МАЭС

Исследования проводили на реальных образцах, предоставленных женщинами и мужчинами в возрасте от 18 до 90 лет, добровольно согласившимися на проведение эксперимента. В соответствии с правилами отбора проб волосы срезали на затылочной части в области шеи или в других частях головы длиной 3–4 см от корня [100]. В этих участках волос содержится самая важная информация о состоянии организма за последние несколько месяцев. Для очистки волос от внешних загрязнений использовали обезжиривание ацетоном, промывание бидистиллированной водой. Чистые волосы высушивали до постоянной массы.

**Подготовка** проб является важным звеном самого анализа. Она заключается в превращении исследуемого вещества в удобную для данного метода форму. Для ДАЭС предпочтительнее использовать твердые образцы либо порошки, а для ПФ, ААС, СФМ и ИСП-МС – растворы.

В случае анализа методом ДАЭС с МАЭС предпочтительнее проводить сухую минерализацию, так как этот способ без дополнительного использования реактивов позволяет в едином цикле совместить минерализацию органической основы и получение аналитического концентрата. Навеску исследуемого образца массой 0,1000–1,0000 г. помещали в предварительно прокаленные и взвешенные кварцевые тигли. Озоление проводили до постоянной массы пока зольный остаток не приобретал серый либо белый цвет в муфельной печи в течение 3 часов, постепенно увеличивая температуру до 500 °С. Поскольку минимальное содержание регламентируемых элементов в волосах [101] не превышает 0,01 ppm, а в зольном остатке волос с учетом концентрирования – 1ppm, целесообразно для проведения анализов использовать метод дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии с МАЭС, который обеспечивает достоверное определение до 70 элементов Периодической таблицы Д.И. Менделеева на уровне регламентированных концентраций.

### 3.2 Скрининг элементного состава зольного остатка волос

Скрининг элементного состава зольного остатка (на примере женских волос, возраст пациентки 25 лет) при разбавлении пробы 1:100 графитовым порошком проводили методом ДАЭС с использованием комплекса «Гранд». Охлажденные тигли после озоления в муфельной печи взвешивали, добавляли к минеральному остатку ОСЧ графитовый порошок (ГОСТ 23463–79) и тщательно перемешивали до однородного состояния. Навески проб массой 0,015 г испаряли из канала (анод) электрода (глубина, диаметр кратера – 0,004, 0,0045 м). Катодом служил электрод, заточенный на конус (в работе использовали графитовые электроды для спектрального анализа ОСЧ-7-4). Условия регистрации спектров: постоянный ток 13 А; расстояние между электродами – 0,003 м; ширина щели –  $3.0 \cdot 10^{-5}$  м; диафрагма – 0.005 м; накоплений – 160; длительность накоплений – 125 мс; полная экспозиция – 20 с.

На основании качественного анализа присутствующие в образце элементы можно разделить на макро- и микроэлементы. Макроэлементы: Са, Mg, P, Zn, Na, К. Микроэлементы: Al, Cu, Fe, Si, Mn, Ni, Pb, Sn, Sr, Ti, В, Ва, Ве, Bi, Cr, Со, Мо, V, W, Zr.

Для разработки методики спектрального анализа золы волос методом ДАЭС с МАЭС необходимо определить количественное содержание основных элементов, установить в виде каких соединений они присутствуют, оценить степень их влияния на результаты определения примесей (матричное влияние), рекомендовать приемы устранения или учета этого влияния для достижения требуемых метрологических характеристик анализа.

### 3.3 Полуколичественное определение основных (матричных) элементов зольного остатка волос

Пробоподготовка и режим съемки спектров описан в предыдущей главе 3.2. Для количественного анализа использовали стандартные образцы (СО) состава графитового коллектора микропримесей СОГ-37 (ГСО 8487-2003), срок годности до 2063 г. [102]. Также для подтверждения результатов ДАЭС с МАЭС по оценке основных элементов, входящих в состав зольного остатка волос, использовали альтернативные методы ИСП-МС (Agilent 7500 cx (Agilent Technologies, США) (Глава. 2, стр. 32), ААС и ПФ (SOLAAR серии S, Thermoelectron, США (Глава 2, стр. 30), результаты представлены в таблице 2.

Пробоподготовка образцов для данных методов осуществлялась путем перевода пробы в раствор. Для этого весь зольный остаток волос растворяли в 0,15 мл концентрированной азотной кислоты при небольшом нагревании с последующим разбавлением в 2 раза бидистиллированной водой. Полученный раствор отфильтровывали в колбу, калиброванную на 25 мл, доводили до риски бидистиллированной водой. Щелочные металлы определяли с помощью ААС SOLAAR серии S с усиленной дейтериевой коррекцией фона с пламенным атомизатором в режиме эмиссии.

Таблица 2 – Полуколичественная оценка содержания макроэлементов в зольном остатке волос

Определяемый элемент	Содержание элементов в зольном остатке волос (мкг/г), найденное методами		
	ДАЭС с МАЭС	ИСП-МС	ААС, ПФ
Ca	$2,0 \cdot 10^5$	$2,2 \cdot 10^5$	-
Mg	$2,9 \cdot 10^4$	$3,0 \cdot 10^4$	-
P	500	-	-
Zn	$1,8 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^4$	$1,9 \cdot 10^4$
Na	-	-	$5,4 \cdot 10^3$
K	-	-	$7,7 \cdot 10^3$

Из таблицы 2 видно, что зольный остаток волос состоит, главным образом, из следующих элементов (в порядке убывания их в пробах): Ca>Mg>Zn>K>Na>P. Причем содержание кальция превосходит содержание других элементов почти на порядок. Поэтому при определении микропримесей методом ДАЭС с МАЭС необходимо учитывать возможность матричного влияния кальция на результаты спектрального анализа зольного остатка волос.

### 3.4 Определение молекулярного и фазового состава зольного остатка волос

Чтобы достоверно проводить анализы различных объектов со сложной матрицей на содержание примесей и микропримесей методом ДАЭС с МАЭС необходимо предварительно исследовать анализируемый объект, чтобы правильно выбрать способ пробоподготовки, оценить матричные влияния, подобрать степень разбавления, состав буферных смесей и условия проведения анализа. Для исследования форм нахождения матричных элементов, найденных с помощью спектрального анализа, использованы методы, описанные в Главе 2.

С помощью ДТА обнаружено присутствие в пробе зольного остатка карбонатов, рисунок 9.

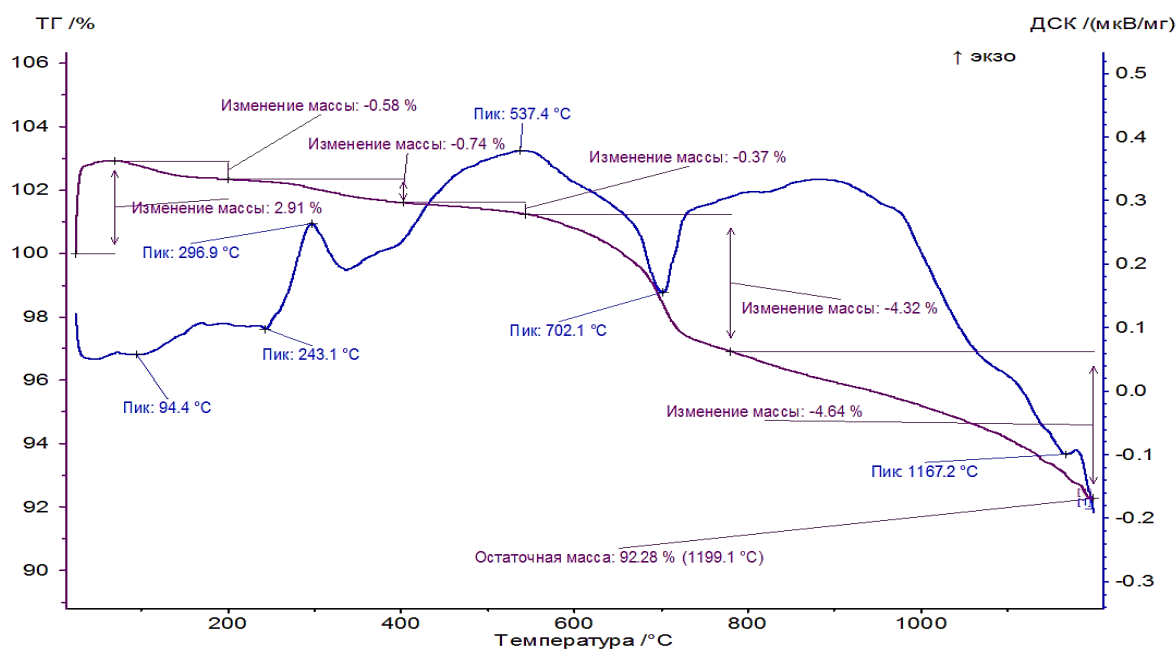


Рисунок 9 – Дериватограмма зольных остатков волос

Дериватограмма (рисунок 9), полученная при нагревании зольного остатка волос до 1373 К, позволила идентифицировать в нем карбонатные и оксидные формы ( $\text{MgO}$ ,  $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$  и  $\text{CaCO}_3$ ) и сделать предположения о возможности присутствия сульфатов:

1.  $T = 94,4 \text{ }^\circ\text{C}$  (эндотермический эффект)



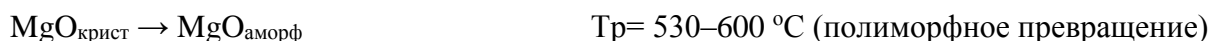
2.  $T = 243,1 \text{ }^\circ\text{C}$  (эндотермический эффект)



3.  $T = 296,9 \text{ }^\circ\text{C}$  (экзотермический эффект)



4.  $T = 537,4 \text{ }^\circ\text{C}$  (экзотермический эффект)



5.  $T = 702,1 \text{ }^\circ\text{C}$  (эндотермический эффект)



6.  $T = 1167,2 \text{ }^\circ\text{C}$  (эндотермический эффект)



По термическим эффектам идентифицирован их молекулярный состав ( $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{MgO}$ ) и установлено примерное содержание их в пробе. Однако подтвердить наличие в пробе солей с более высокими температурами плавления не представляется возможным из-за ограниченной возможности применяемой установки.

С помощью ИК-спектроскопии проведена дополнительная идентификация анионного состава зольных остатков волос (рисунок 10). Основная полоса пропускания лежит в интервале  $1250\text{--}1000\text{ см}^{-1}$  ( $\nu_3(\text{F}_2)$  – валентные антисимметричные колебания) и принадлежит сульфат-ионам  $\text{SO}_4^{2-}$ . Также им соответствуют полосы поглощения  $678$  и  $613\text{ см}^{-1}$  ( $\nu_4(\text{F}_2)$  – деформационные колебания). Небольшой перегиб в области  $1100\text{--}1000\text{ см}^{-1}$  принадлежит фосфат ионам  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $\nu_1$  – деформационные колебания). Полосы пропускания  $1490\text{--}1410\text{ см}^{-1}$  ( $\nu_1$  – валентное колебание), а также  $878\text{ см}^{-1}$  принадлежат карбонат ионам  $\text{CO}_3^{2-}$  [103, 104]. Таким образом, с помощью ИК-спектроскопии на качественном уровне, установлен анионный состав зольных остатков волос: это сульфат-, карбонат-, и фосфат ионы, которые можно по возрастанию интенсивности полос пропускания расположить в следующий ряд ( $\text{SO}_4^{2-} > \text{CO}_3^{2-} > \text{PO}_4^{3-}$ ).

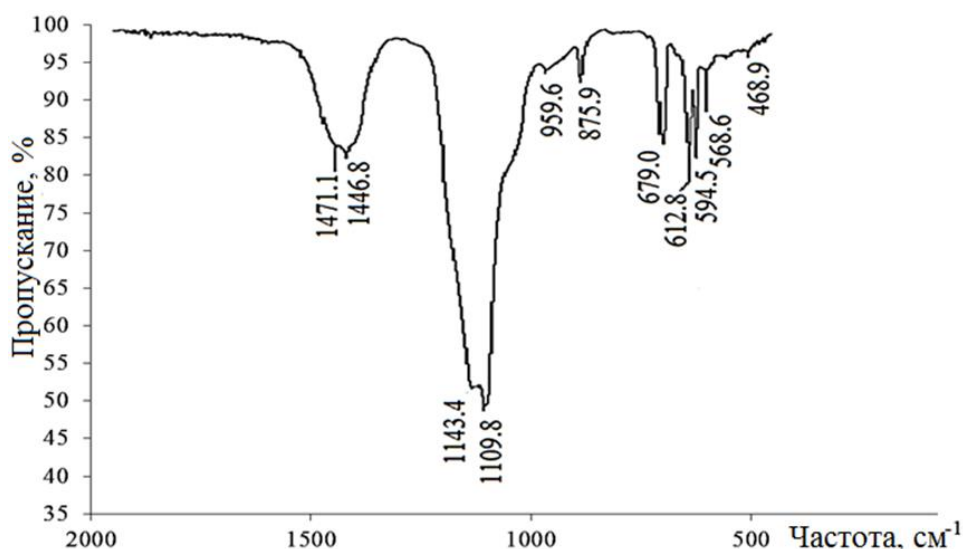


Рисунок 10 – ИК-спектры пропускания зольного остатка волос

С помощью рентгенофазового анализа (рисунок 11) удалось установить приблизительный количественный фазовый состав преобладающих соединений зольных остатков волос, который представлен кристаллическими фазами 75%  $\text{CaSO}_4$  и 25 %  $\text{CaCO}_3$ . Таким образом, по результатам ДТА, РФА, ИКС и атомной спектроскопии можно сделать вывод, что зольный остаток волос главным образом состоит из сульфатов и карбонатов кальция, с примесью фосфатов.

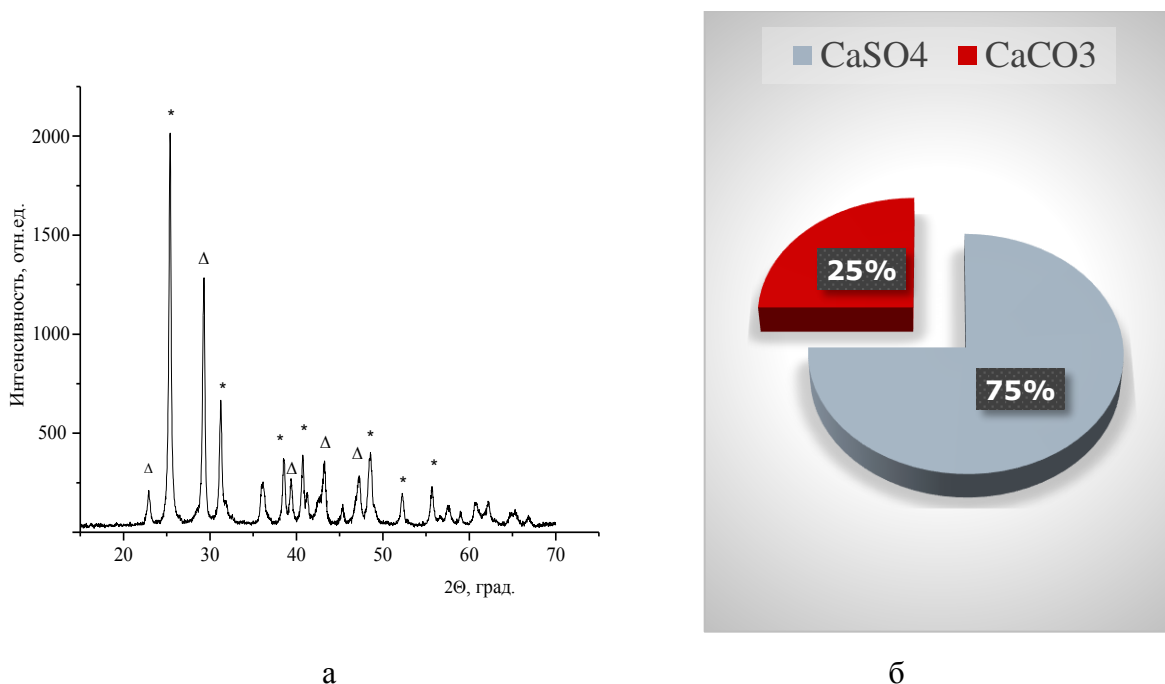


Рисунок 11 – Рентгенофазовый анализ золы волос (а), где \* - сульфат кальция ( $\text{CaSO}_4$ ),  $\Delta$  - карбонат кальция ( $\text{CaCO}_3$ ) и (б) кристаллический состав зольного остатка волос.

Более тонкие исследования элементного и молекулярного состава зольного остатка проведены с помощью растрового электронного микроскопа Hitachi TM – 3000 при ускоряющем напряжении 15 кВ, в условиях снятия зарядки с образца (электронная пушка:  $5 \cdot 10^{-2}$  Па; камера для образца: 30-50 Па) с приставкой для энергодисперсионного микроанализа – анализатор Quantax 70. Прибор, использован для изучения мультиэлементного качественного и количественного (безэталонного) анализа зольного остатка в различных точках образца.

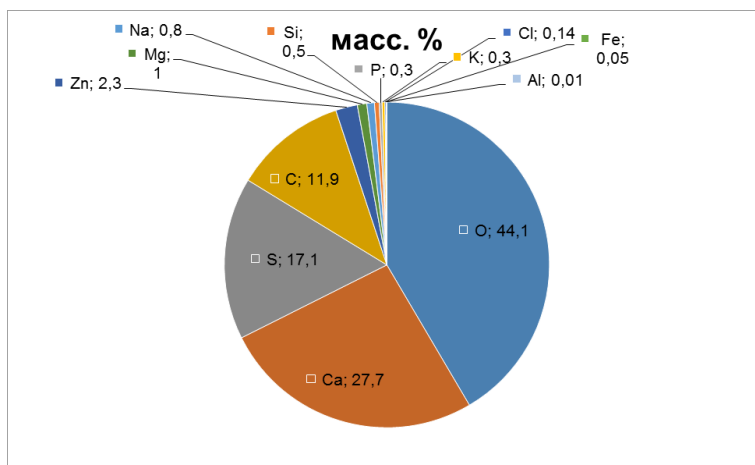


Рисунок 12 – Элементный состав зольного остатка женских волос

Из рисунка 12 видно, что зола волос в большей степени представлена соединениями, содержащими O, Ca, S и C, что хорошо согласуется с результатами других методов

С помощью программного обеспечения РЭМ выведен предположительный материальный баланс зольного остатка волос, суммарно составляющий  $\approx 96\%$ . (рисунок 13, таблица 3)

Таблица 3 – Материальный баланс зольного остатка волос, определенный методом РЭМ.

Элемент	wt. %	$\Delta$ , %	Общее количество (моль)	Количество элемента, пошедшее на образование соединения, (моль)							
				CaSO <sub>4</sub>	CaCO <sub>3</sub>	MgO	Zn <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	KCl	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	FeO
O	44,18	4,60	2,76	2,12	0,486	0,04	0,04	0,057	–	0,00075	0,0009
C	11,89	1,37	0,99	–	0,162	–	–	–	–	–	–
Ca	27,68	0,85	0,692	0,53	0,162	–	–	–	–	–	–
S	17,11	0,63	0,53	0,53	–	–	–	–	–	–	–
Mg	0,95	0,08	0,04	–	–	0,04	–	–	–	–	–
Na	0,837	0,08	0,04	–	–	–	–	0,038	–	–	–
Zn	2,33	0,10	0,035	–	–	–	0,015	–	–	–	–
Si	0,54	0,05	0,019	–	–	–	–	0,019	–	–	–
P	0,32	0,04	0,01	–	–	–	0,01	–	–	–	–
K	0,33	0,04	0,0085	–	–	–	–	–	0,004	–	–
Cl	0,139	0,03	0,004	–	–	–	–	–	0,004	–	–
Fe	0,050	0,03	0,0009	–	–	–	–	–	–	–	0,0009
Al	0,014	0,001	0,0005	–	–	–	–	–	–	0,0005	–

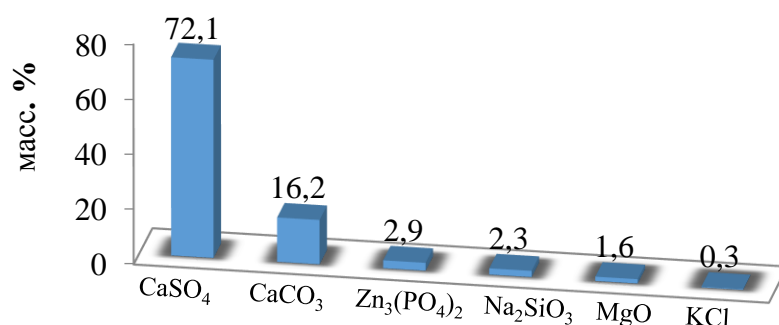


Рисунок 13 – Предполагаемый состав зольного остатка волос человека

Результаты анализа показывают, что зольный остаток волос предположительно состоит из таких соединений, как CaSO<sub>4</sub>, CaCO<sub>3</sub>, MgO, Zn<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>, KCl, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, FeO. Также растровая электронная микроскопия позволяет установить содержание свободного углерода, уровень которого в золе волос составляет около 1%. Это дает основания полагать, что углерод в свободном виде не влияет на результаты анализа.

**Вывод:** Необходимость использования большого количества методов исследования обусловлено тем, что не один из них не дает полной и необходимой информации о составе зольного остатка, и только их сочетание позволяет установить близкий к истинному состав исследуемой пробы. Знание состава необходимо для принятия решений об устранении матричных влияний. Таким образом, основу зольного остатка волос составляют сульфаты и карбонаты кальция ( $\text{CaSO}_4$ ,  $\text{CaCO}_3$ ), присутствие которых необходимо учитывать при разработке методики анализа на примесные компоненты.

### 3.5 Оптимизация условий количественного определения макроэлементов в зольном остатке волос методом ДАЭС с МАЭС

#### 3.5.1 Выбор степени разбавления зольного остатка волос

Для проведения исследований по оптимизации условий спектрального анализа волос выбраны следующие спектральные линии (таблица 4).

Таблица 4 – Характеристика атомных и ионных спектральных линий для определения макроэлементов в зольном остатке волос человека.

Элемент	Длина волны, нм	Интенсивность	Энергия возбуждения, эВ	Потенциал ионизации, эВ
Ca (II)*	315,887	6	7,05	6,11
Zn (I)	328,233	7	7,78	9,39
Mg (I)	277,669	6	7,18	7,64
P (I)	255,326	6	7,18	10,48

Выбранные линии свободны от наложений и идентифицируются в широком интервале концентраций (рисунок 14).



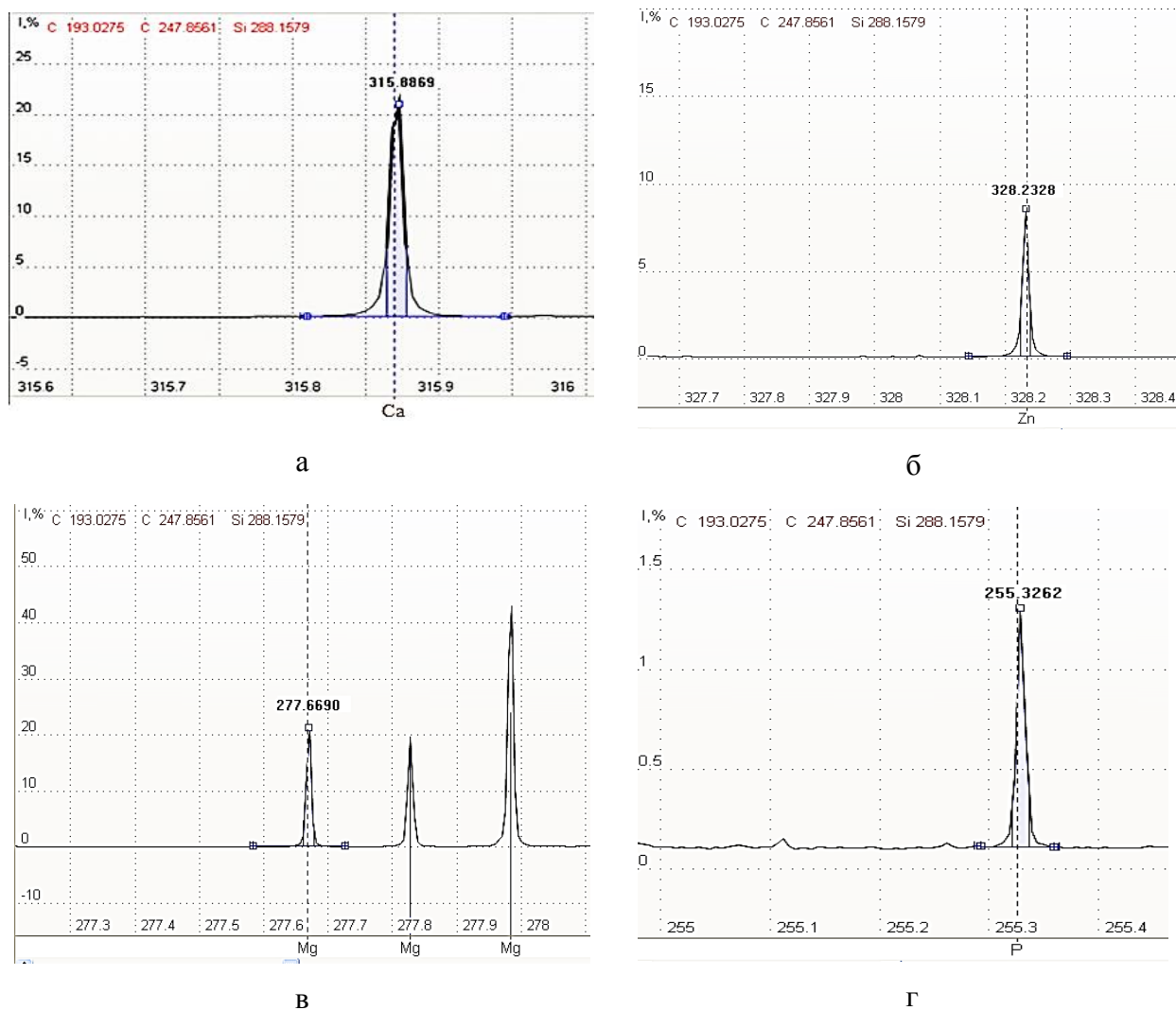


Рисунок 14 – Спектральные линии для определения в зольном остатке волос: а) кальция; б) цинка; в) магния; г) фосфора

Для количественного определения макроэлементов с уровнем концентрации в зольном остатке волос более 100 ppm необходимо, прежде всего, выбрать степень разбавления, обеспечивающую минимальный уровень погрешности. Предварительный выбор степени разбавления осуществляли на реальных образцах зольных остатков волос. Зольные остатки женских волос разбавляли последовательно в 10, 50, 100, 200, 500 и 1000 раз графитовым порошком. Количественный анализ методом ДАЭС с МАЭС проводили относительно ГСО (СОГ-37) [102]. Для выбора оптимальной степени разбавления строили зависимости  $c = f(\lg Kp)$  ( $c$  - концентрация матричного элемента,  $Kp$  – коэффициент разбавления (рисунок 15). Для сравнения на рисунке представлены приблизительные интервалы содержания элементов в волосах пациентов в возрасте 20 лет (референтные значения) [101].

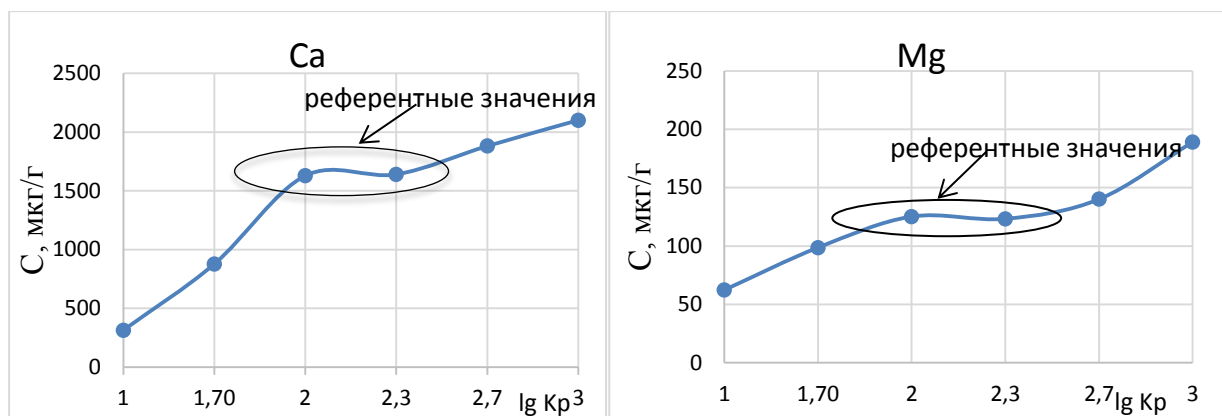


Рисунок 15 – Влияние степени разбавления зольных остатков на правильность определения кальция и магния в пробах волос (сравнением с референтными значениями).

Из рисунка, видно, что при малых степенях разбавления ( $Kp = 10$ ) результат занижен. Это обусловлено, по-видимому, взаимным влиянием матричных элементов, концентрация которых остается значительной при этой степени разбавления. При разбавлении ( $Kp = 100$ – $200$ ) результаты анализа для макроэлементов лежат в интервале референтных значений и согласуются с литературными данными [101]. Однако оптимальной степенью разбавления для проведения спектрального анализа по предварительным данным все-таки следует принять  $Kp = 200$ , поскольку аналитические сигналы определяемых элементов находятся в пределах области градуировочных характеристик применяемых стандартов (рисунок 16). Более высокое разбавление приводит к завышенным результатам, поскольку на полученный результат может накладываться значение холостого опыта.

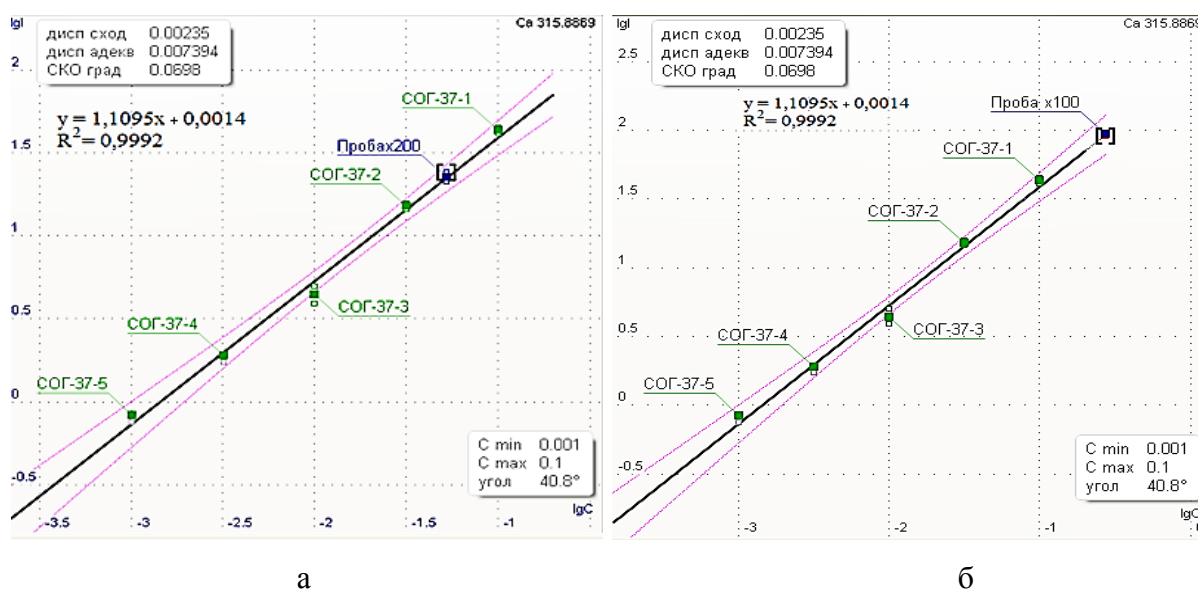


Рисунок 16 – Количественное определение кальция в зольном остатке волос: а – при разбавлении графитовым порошком в соотношении 1:200; б – при разбавлении графитовым порошком в соотношении 1:100.

Таким образом, предварительные результаты по определению матричных элементов в зольном остатке волос показали, что для анализа следует рекомендовать разбавление зольного остатка волос графитовым порошком в соотношении 1:200.

### 3.5.2 Предварительное оценивание погрешности определения матричных элементов

Для предварительной оценки погрешности прямого определения матричных элементов в зольном остатке волос методом ДАЭС воспользовались алгоритмом оперативного контроля, рекомендованном в РМГ 76-2014 [105].

Для реализации контрольной процедуры были получены результаты контрольных измерений содержания определяемых компонентов в исследуемой пробе ( $\bar{x}$ ) и в такой же пробе с внесенной известной добавкой ( $\bar{x}'$ ). Результатом контрольного измерения принимали среднее арифметическое значение результатов пяти параллельных определений. В качестве рабочей пробы использовали зольный остаток волос, разбавленный графитовым порошком в 200 раз, в качестве добавки – стандартные образцы на графитовой основе (СОГ-37-1,3), для кальция специально приготовленные синтетические смеси. Величина добавки была соизмерима с пробой, и составляла не более 50–150 % от её содержания.

Результат контрольной процедуры  $K_k$  рассчитывали по формуле (12):

$$K_k = |\bar{x}' - \bar{x} - c_d|, \quad (12)$$

а норматив контроля  $K_n$  – по формуле (13):

$$K_n = \sqrt{\Delta_{\bar{x}'}^2 + \Delta_{\bar{x}}^2}. \quad (13)$$

Характеристики погрешности результатов анализа, отвечающие содержанию элемента в исследуемой пробе и расчетному значению содержания элемента в пробе с добавкой, рассчитывали по формуле (14):

$$\Delta_{\bar{x}'}^2 = (\bar{x}' \cdot \delta)^2 \text{ и } \Delta_{\bar{x}}^2 = (\bar{x} \cdot \delta)^2. \quad (14)$$

Реализацию решающего правила контроля проводили сопоставлением результата контрольной процедуры с нормативом контроля. Необходимо чтобы результат контрольной процедуры удовлетворял условию  $|K_k| \leq K_n$ , тогда процедура анализа признавалась удовлетворительной. Значение относительной погрешности  $\delta(\%)$  подбирали эмпирически, путем приведения в соответствие основному условию алгоритма проверки  $|K_k| \leq K_n$ .

Результаты проверки приведены в таблице 5.

Таблица 5 - Предварительная оценка погрешности определения основных элементов в пробах волос по методу добавок ( $P=0,95, n = 5$ ).

Элемент	Найдено в пробе, % мас.		$c_d$ , % мас.	Найдено в пробе с добавкой, % мас.		$K_k$	$K_H$	$\delta$ , %
	$\bar{x}$	$\Delta_{\bar{x}}^2$		$\bar{x}'$	$\Delta_{\bar{x}'}^2$			
Ca	0,10	$1 \cdot 10^{-4}$	0,10	0,22	$4,8 \cdot 10^{-4}$	0,020	0,024	10
Zn	0,009	$8,1 \cdot 10^{-7}$	0,010	0,020	$4 \cdot 10^{-6}$	0,001	0,002	10
Mg	0,015	$5 \cdot 10^{-6}$	0,010	0,029	$1,9 \cdot 10^{-5}$	0,004	0,005	15

Таким образом, по предварительным данным определение макроэлементов при разбавлении зольного остатка графитовым порошком в соотношении 1:200 можно осуществлять с погрешностью не более 10–15 отн. %. Более точная оценка погрешности будет проведена после метрологической аттестации МВИ.

### 3.6 Оптимизация условий количественного определения микроэлементов в зольном остатке волос методом ДАЭС с МАЭС

Для спектрального анализа микроэлементов экспериментально подобраны следующие спектральные линии (таблица), обеспечивающие возможность определения минимальных концентраций.

Таблица 6 – Характеристики спектральных линий для примесей и микропримесей, входящих в состав волос.

Элемент	Длина волны, нм	Интенсивность	Энергия возбуждения, эВ	Потенциал, ионизации, эВ
Si	251,61	9	4,9	8,15
Fe	347,54	8	4,31	7,9
Al	309,27	9	4,02	5,98
Cu	327,39	10	3,78	7,72
Mn	280,11	10	4,43	7,43
Cd	298,03	5	8,1	8,99

Ni	305,08	9	4,09	7,63
Co	345,35	9	4,02	7,86
Pb	283,32	9	4,37	7,42
Cr	301,49	6	5,08	6,76
As	234,98	7	6,59	9,81
Ti	323,65	9	3,86	6,83
Sn	317,50	9	4,33	7,34
Mo	317,03	9	3,91	7,1
Zr	339,19	9	3,82	6,84
Ag	328,07	10	3,78	7,57
V	310,22	7	4,36	6,74

Проведенные исследования показывают, что преобладающим макроэлементом, входящим в состав зольного остатка волос, является кальций. Нами установлено, что его содержание может варьироваться в интервале (100 000—300 000) мкг/г. Он может оказывать влияние на аналитические сигналы контролируемых микроэлементов, уменьшая или завышая их значение. Поэтому на начальной стадии исследований целесообразно провести оценку зависимости аналитического сигнала микроэлементов в присутствии преобладающего матричного компонента.

При определении микроэлементов методом ДАЭС с МАЭС разбавление зольного остатка волос графитовым порошком более чем в 10 раз не целесообразно, так как содержание ряда примесей становится ниже предела обнаружения.

Исследование проводили на модельных образцах, приготовленных введением постоянного количества примесей 10 мкг/г (СОГ-37) на графитовую основу, один из образцов содержал 3мас. % по Са в виде сульфата (7,2 % по сульфату), другой - 3мас. % по Са в виде карбоната (4,5 % по карбонату), что соответствует разбавлению реальной пробы зольного остатка волос в 10 раз. На рисунках (17 – 19) представлены диаграммы влияния  $\text{CaSO}_4$  и  $\text{CaCO}_3$  на интенсивность аналитических сигналов примесей в присутствие стабилизирующей добавки носителя - хлорида натрия и в его отсутствие, время экспозиции накопления аналитического сигнала 20 с.

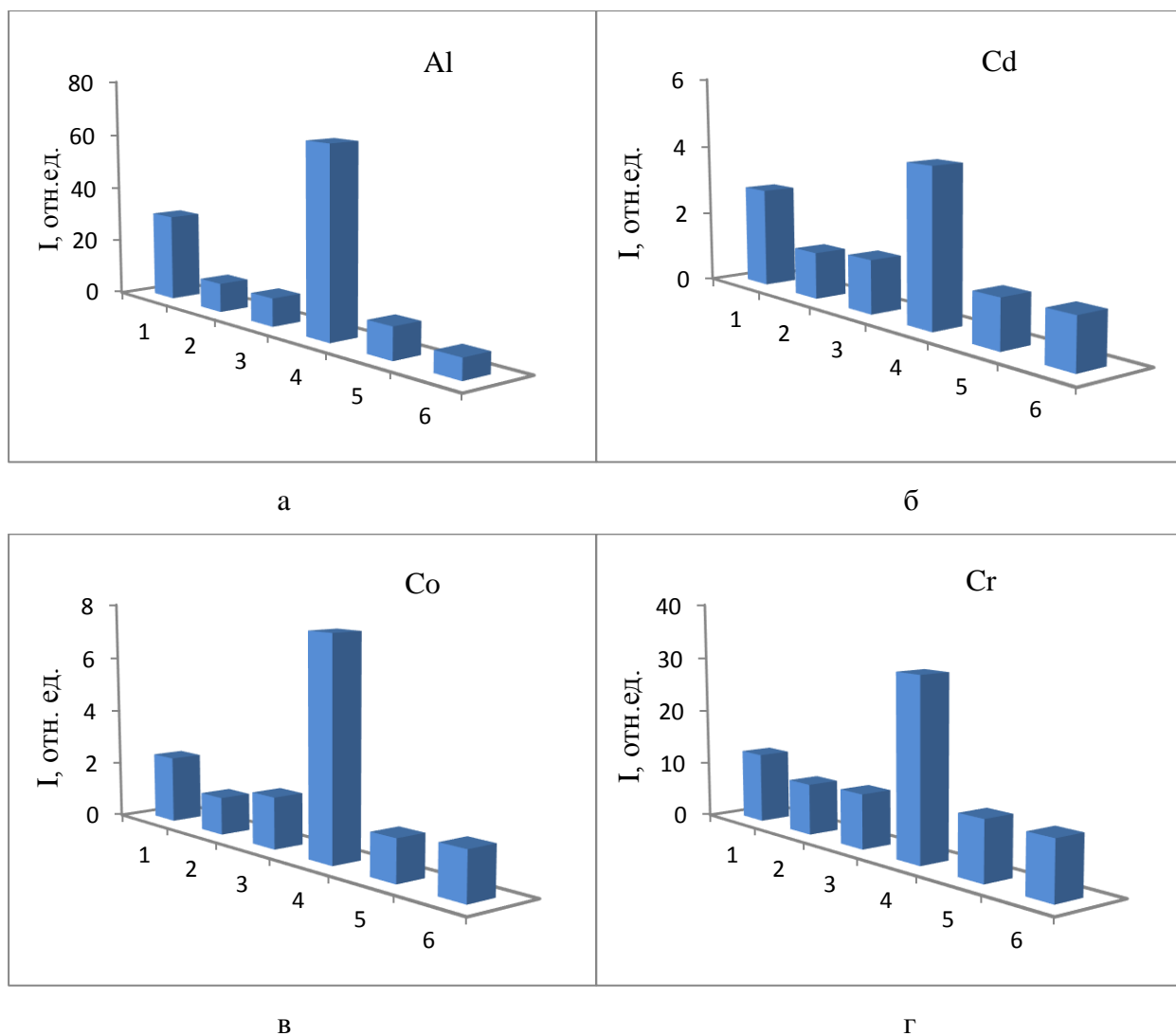


Рисунок 17 – Диаграммы накопления аналитических сигналов Al, Cd, Co, Cr, входящих в состав зольных остатков волос, в зависимости от состава пробы: 1 – ГСО; 2 – ГСО+CaSO<sub>4</sub>; 3 – ГСО+CaCO<sub>3</sub>; 4 – ГСО+NaCl; 5 – ГСО+CaSO<sub>4</sub>+NaCl; 6 – ГСО+CaCO<sub>3</sub>+NaCl. Концентрация примесей в стандартном образце (ГСО) – 10 мкг/г, концентрация Ca – 3 % (в виде сульфата и карбоната), концентрация стабилизирующего носителя Na – 3 % (в виде хлорида).

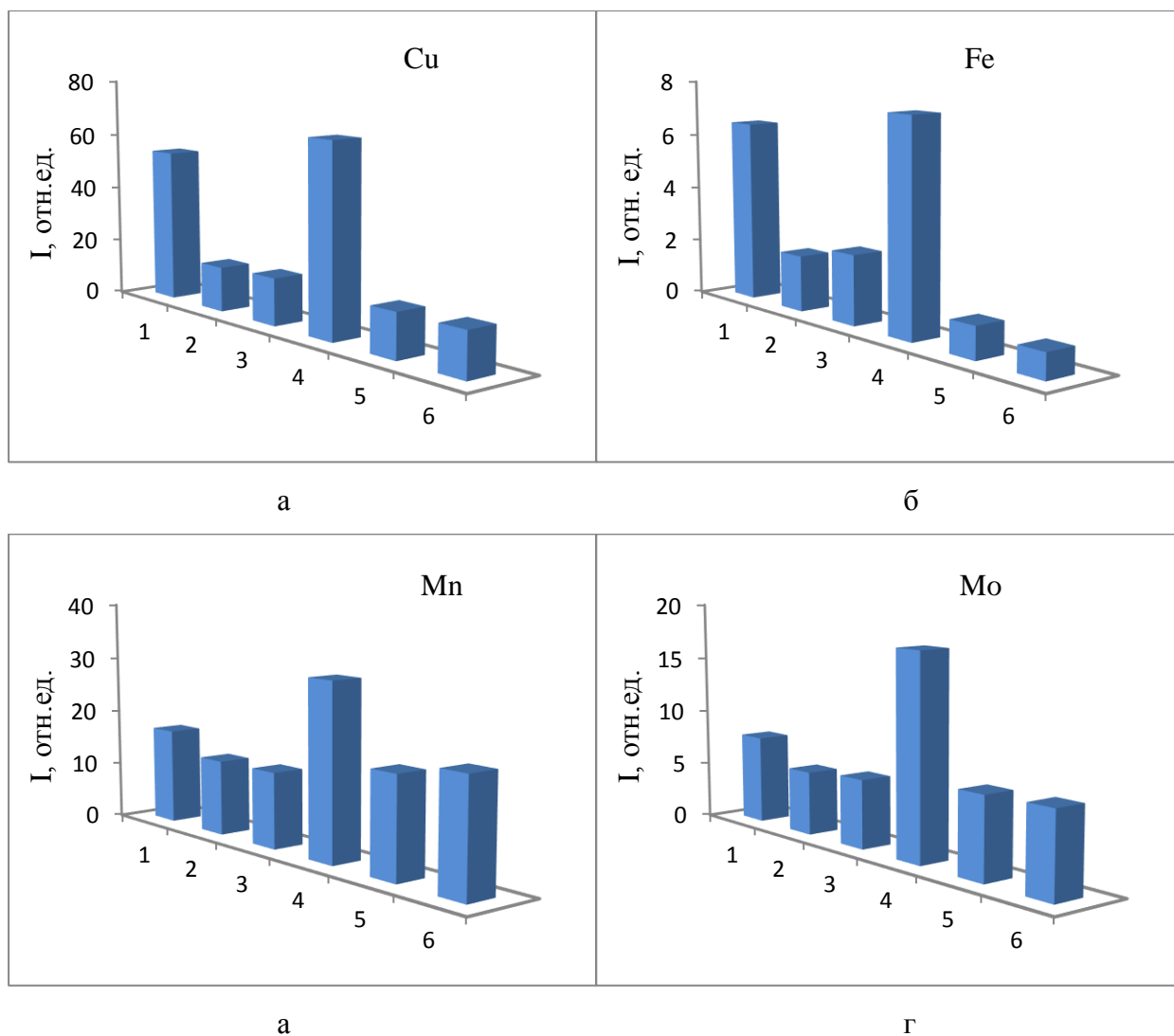


Рисунок 18 – Диаграммы накопления аналитических сигналов Cu, Fe, Mn, Mo, входящих в состав зольных остатков волос, в зависимости от состава пробы: 1 – ГСО; 2 – ГСО+CaSO<sub>4</sub>; 3 – ГСО+CaCO<sub>3</sub>; 4 – ГСО+NaCl; 5 – ГСО+CaSO<sub>4</sub>+NaCl; 6 – ГСО+CaCO<sub>3</sub>+NaCl. Концентрация примесей в стандартном образце (ГСО) – 10 мкг/г, концентрация Ca – 3 % (в виде сульфата и карбоната), концентрация стабилизирующего носителя Na – 3 % (в виде хлорида).

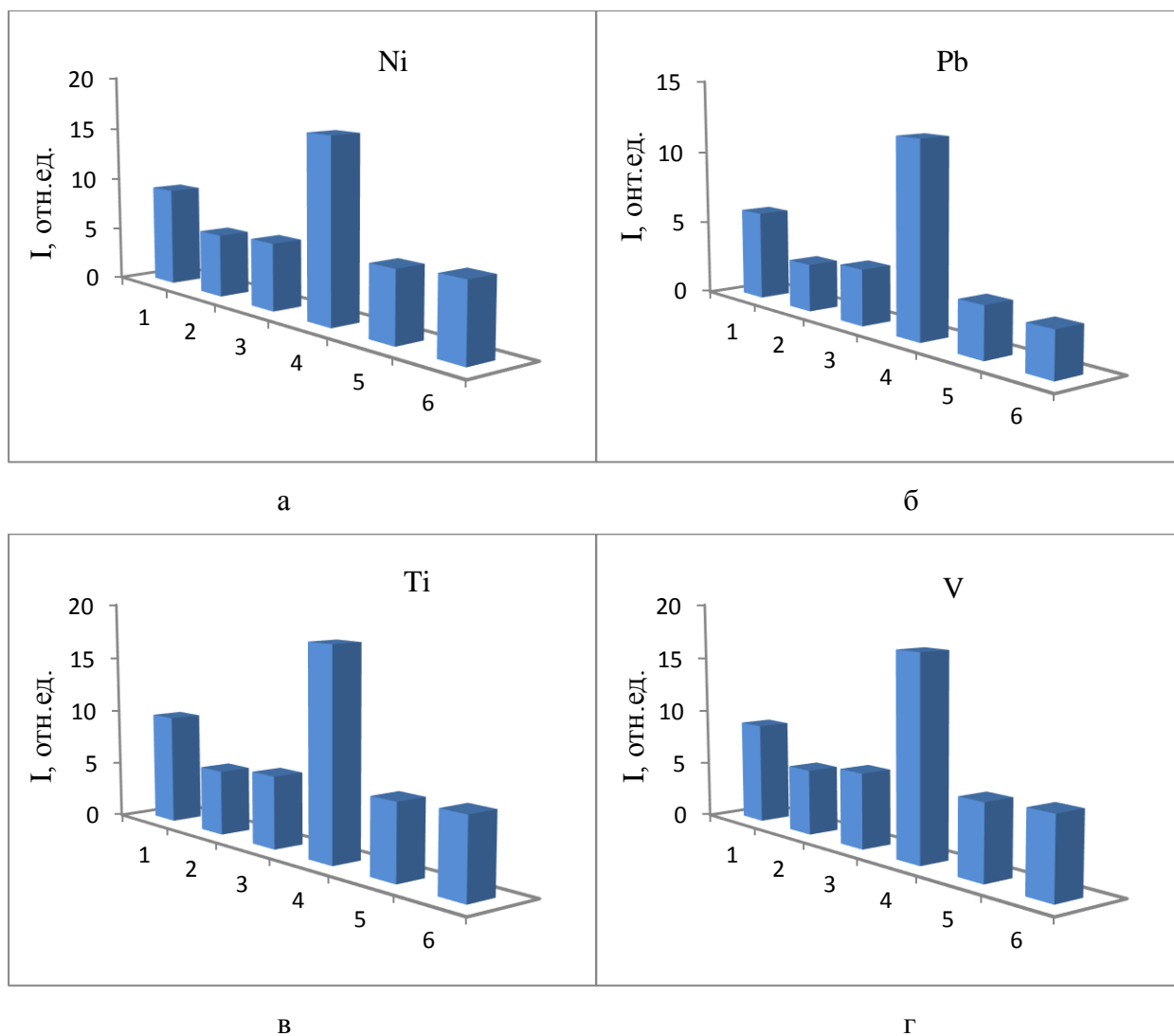


Рисунок 19 – Диаграммы накопления аналитических сигналов Ni, Pb, Ti, V, входящих в состав зольных остатков волос, в зависимости от состава пробы: 1 – ГСО; 2 – ГСО+CaSO<sub>4</sub>; 3 – ГСО+CaCO<sub>3</sub>; 4 – ГСО+NaCl; 5 – ГСО+CaSO<sub>4</sub>+NaCl; 6 – ГСО+CaCO<sub>3</sub>+NaCl. Концентрация примесей в стандартном образце (ГСО) – 10 мкг/г, концентрация Ca – 3 % (в виде сульфата и карбоната), концентрация стабилизирующего носителя Na – 3 % (в виде хлорида).

Из диаграмм накопления аналитических сигналов в зависимости от состава пробы для ряда элементов видно, что CaSO<sub>4</sub> и CaCO<sub>3</sub> существенно уменьшают аналитические сигналы контролируемых элементов. Введение буферного стабилизирующего носителя NaCl не устраняет матричных влияний. Это подтверждает высказанное ранее предположение о необходимости учета и устранения матричного влияния.

Характер подобного влияния, прослеживается так же на кривых «испарения-возбуждения»  $I(t)$ , полученных путем развертки спектра во времени (рисунки 20 – 22). Регистрацию спектров проводили на тех же модельных смесях при той же степени разбавления. Аналитические сигналы регистрировали каждые две секунды до полного



выгорания пробы в течение 30 с. Затем строили кривые «испарения – возбуждения» в координатах: интенсивность спектральной линии – время.

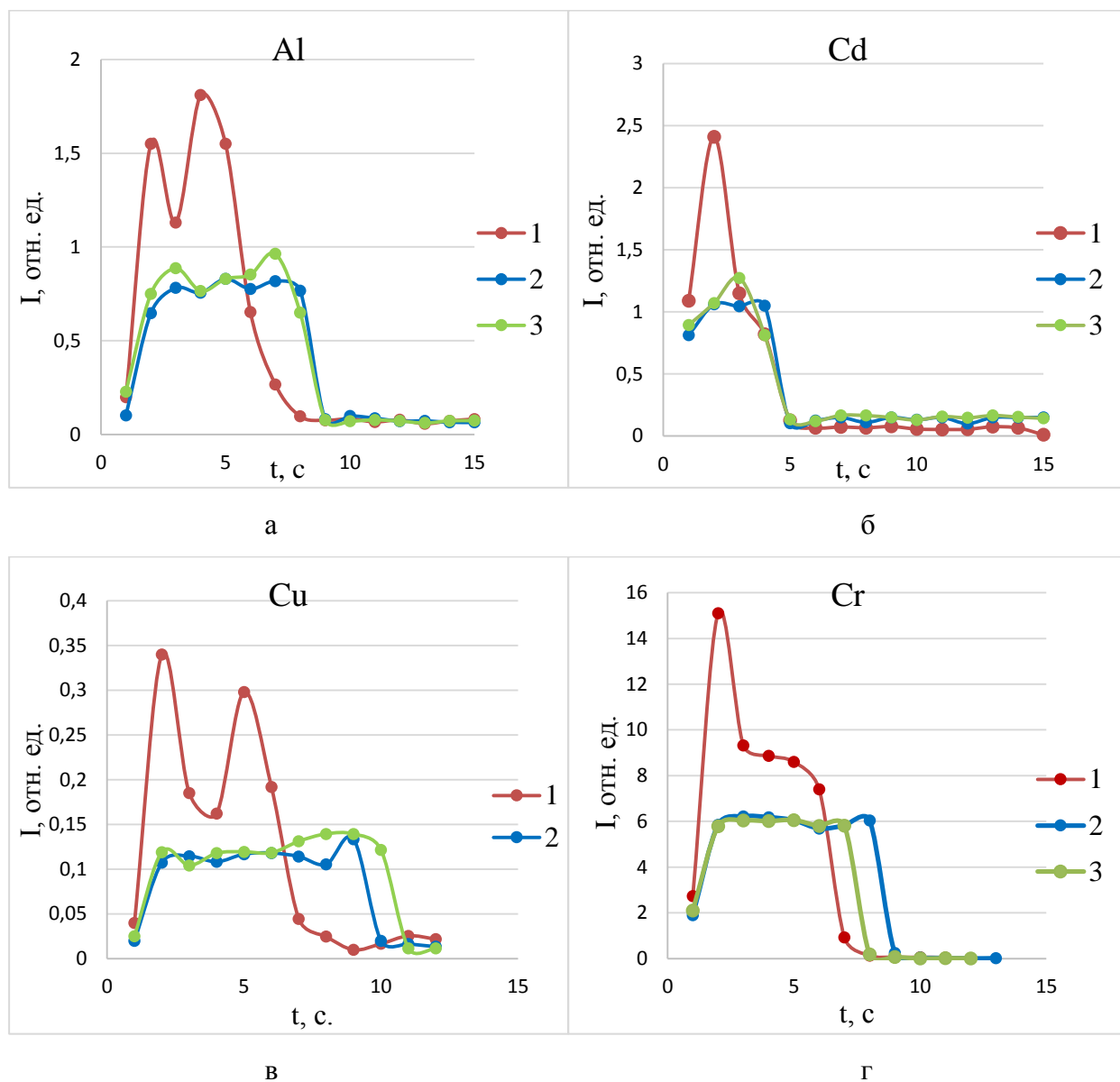


Рисунок 20 – Кривые «испарения-возбуждения» для: а – Al, б – Cd, в – Cu, г – Cr. 1 – ГСО + NaCl; 2 – ГСО + CaSO<sub>4</sub> + NaCl; 3 – ГСО + CaCO<sub>3</sub> + NaCl. Концентрация примесей в стандартном бразце (ГСО) – 10 мкг/г, концентрация Ca – 3% при введении в виде сульфата и карбоната. Концентрация стабилизирующего носителя NaCl (3 % по Na).

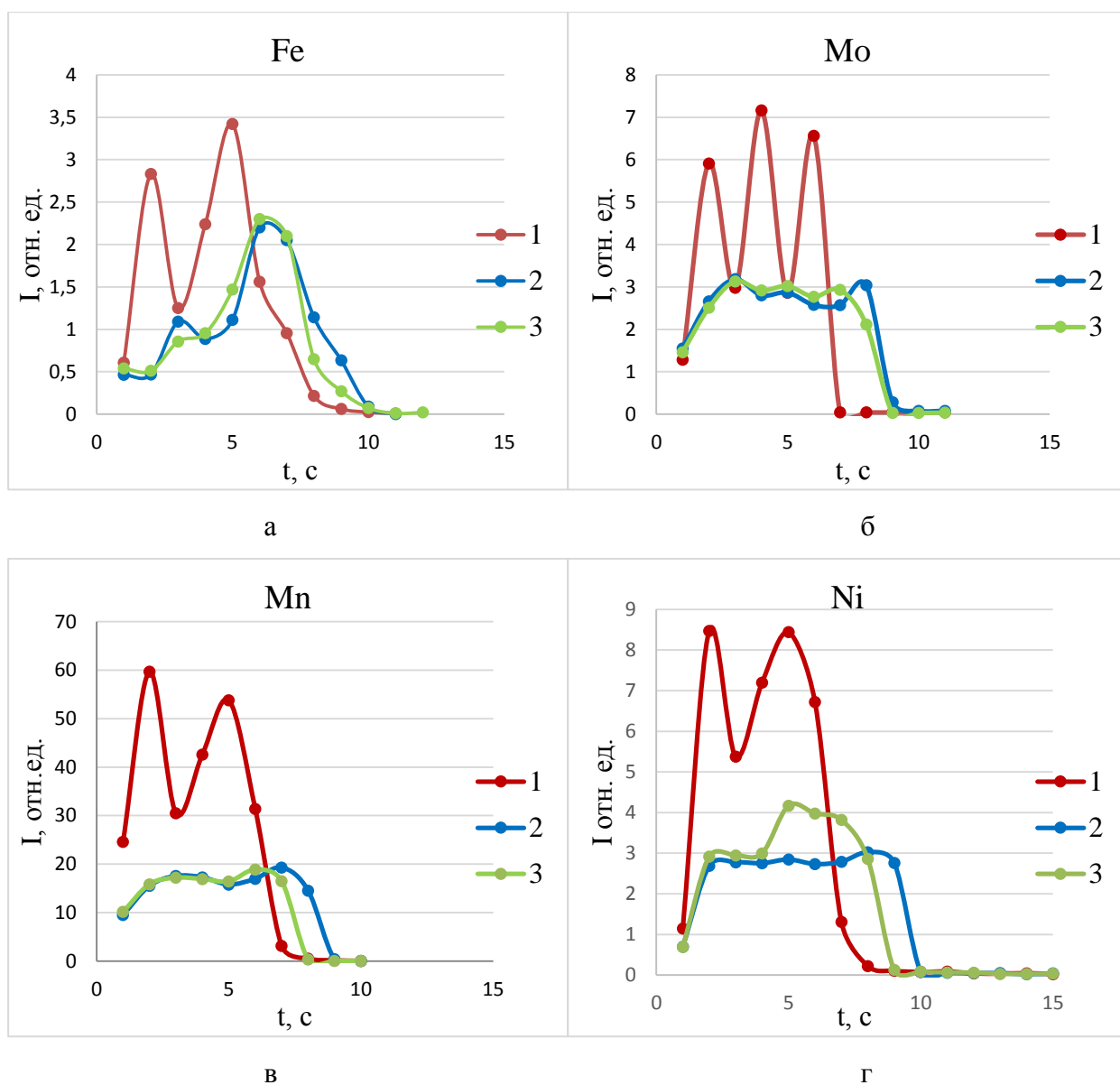


Рисунок 21 – Кривые «испарения-возбуждения» для: а – Fe, б – Mo, в – Mn, г – Ni. 1 – ГСО + NaCl; 2 – ГСО + CaSO<sub>4</sub> + NaCl; 3 – ГСО + CaCO<sub>3</sub> + NaCl. Концентрация примесей в стандартном бразце (ГСО) – 10 мкг/г, концентрация Ca – 3% при введении в виде сульфата и карбоната. Концентрация стабилизирующего носителя NaCl (3 % по Na).

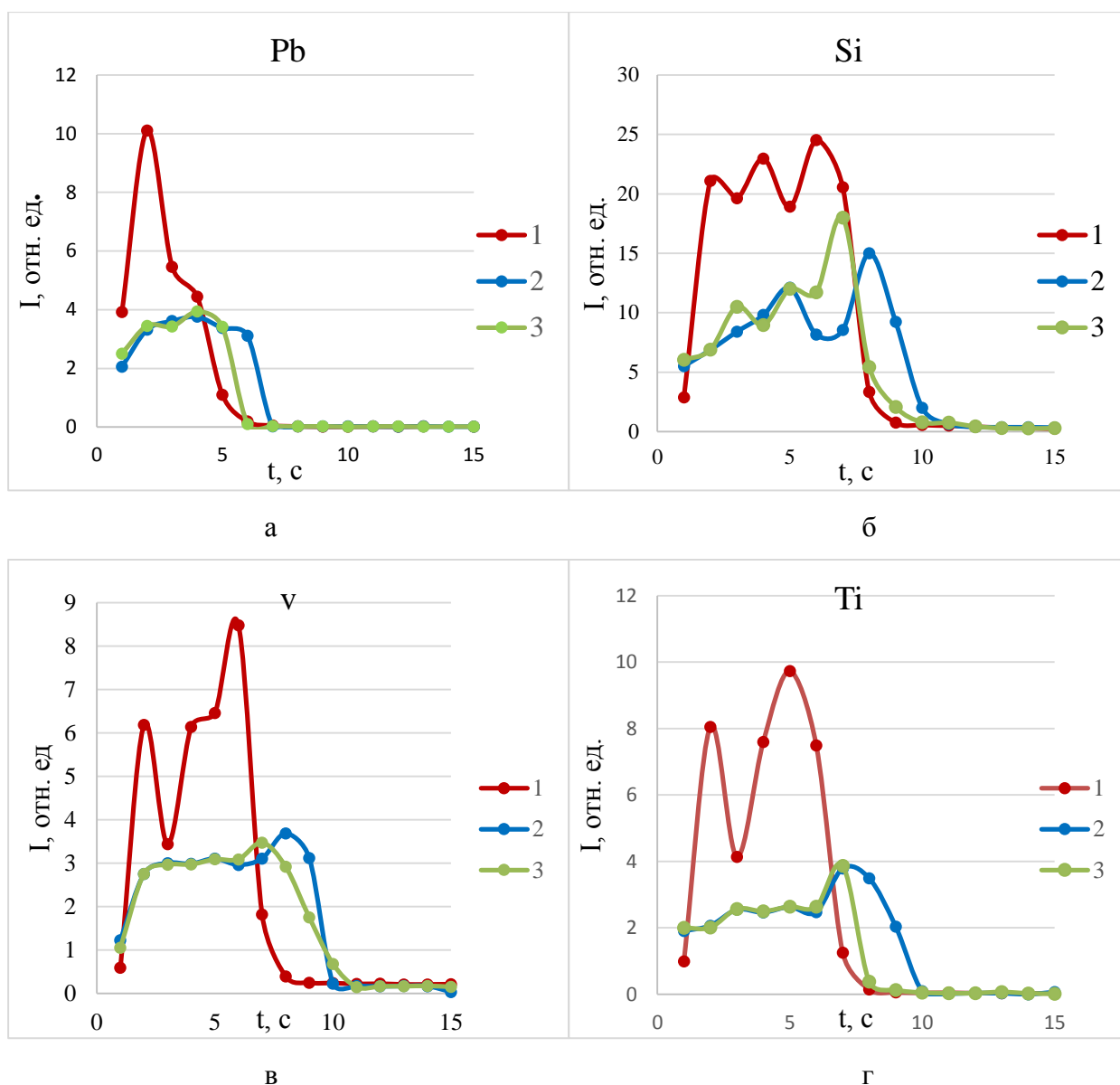


Рисунок 22 – Кривые «испарения-возбуждения» для: а – Pb, б – Si, в – V, г – Ti. 1 – ГСО + NaCl; 2 – ГСО + CaSO<sub>4</sub> + NaCl; 3 – ГСО + CaCO<sub>3</sub> + NaCl. Концентрация примесей в стандартном бразце (ГСО) – 10 мкг/г, концентрация Ca – 3% при введении в виде сульфата и карбоната. Концентрация стабилизирующего носителя NaCl (3 % по Na).

Из рисунков (20 – 22) видно, что в большинстве случаев процесс поступления атомов в зону разряда, описывающийся кривыми «испарения-возбуждения», носит ступенчатый характер, в особенности для проб в отсутствие макрокомпонентов. Такой вид кривых обусловлен тем, что в первые секунды горения дуги происходит взрывоподобный выброс анализируемого вещества (обусловленный электрическим пробоем разрядного промежутка), затем горение дуги стабилизируется, и появляется второй кинетический максимум, обусловленный равномерным поступлением атомов в зону разряда. Иногда можно наблюдать появление и третьего кинетического максимума, обусловленного возможностью протекания термохимических реакций с образованием тугоплавких форм соединений в кратере

графитовых электродов. В присутствии макрокомпонента кинетические максимумы уменьшаются и сглаживаются, что может быть обусловлено протеканием высокотемпературных термохимических реакций с графитом, входящим в состав пробы.

Предположительно механизм образования высокотемпературных форм удерживающих элементы примесей в кратере электродов и занижающих их аналитические сигналы, можно описать с помощью следующих реакций:

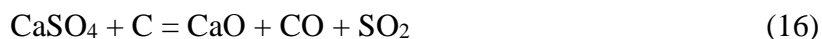


Таблица 8 – Температуры плавления и кипения продуктов термохимических реакций

Соединение кальция	$T_{\text{пл.}}$ , К	$T_{\text{кип.}}$ , К
$\text{CaC}_2$	2160	2300
$\text{CaO}$	2570	2850

**Вывод:** В результате проведенных исследований установлено влияние макроэлементов, входящих в состав зольного остатка волос (далее по тексту «матричное влияние»). Основными матричными компонентами являются соли кальция. Определены их концентрации и формы нахождения ( $\text{CaSO}_4$  и  $\text{CaCO}_3$ ) в зольном остатке. По результатам исследований, представленных в (п. 3.4, гл.3), следует заключить, что влияние макроэлемента кальция заключается в замедлении поступления примесей в зону разряда и, как следствие, в уменьшении их аналитических сигналов. Это влияние не зависит от химической формы кальция (сульфат или карбонат), так как обе они в результате термохимических реакций способны превращаться в более тугоплавкие  $\text{CaO}$  и  $\text{CaC}_2$ . солей на формирование аналитических сигналов. В дальнейшем для устранения матричного влияния следует остановиться на изучении  $\text{CaSO}_4$  как преобладающего компонента в анализируемых пробах зольных остатков волос.

### 3.7 Способы устранения матричных влияний при спектральном анализе зольного остатка волос

Как показано в предыдущем параграфе 3.6 гл. 3 основные компоненты зольного остатка  $\text{CaSO}_4$  и  $\text{CaCO}_3$  существенно влияют на процессы испарения и возбуждения микроэлементов в дуговом разряде, искажая результаты их количественного определения методом ДАЭС с МАЭС (матричный эффект).

Можно рассмотреть следующие способы устранения матричных влияний:

1. Более чем 10-кратное разбавление пробы графитовым порошком.
2. Увеличение погрешности спектрального анализа волос.
3. Введение в стандартные образцы (СО) от 1 до 3 % мас. кальция в виде  $\text{CaCO}_3$  и  $\text{CaSO}_4$ , что соответствует разбавлению реальной пробы в 10 раз;
4. Расчет поправочных коэффициентов для корректировки концентраций микроэлементов.

**Первый вариант.** Матричный эффект можно существенно уменьшить дополнительным разбавлением зольного остатка волос графитовым порошком. Однако более чем 10-кратное разбавление приводит к тому, что содержание ряда элементов становится ниже предела обнаружения.

**Второй вариант.** Можно увеличить погрешность определения микроэлементов путем увеличения источников погрешности при метрологической аттестации. Однако тогда данный метод потеряет конкурентную способность в сравнении с другими альтернативными методами.

**Третий вариант.** Введение в государственные образцы матричного элемента кальция в сульфатной или карбонатной форме. Данный способ может быть отягощён погрешностью изменений аттестованных значений применяемых стандартов.

**Четвертый способ.** Расчет поправочных коэффициентов для корректировки концентраций микроэлементов. На наш взгляд данный способ свободен от вышеперечисленных недостатков. Основная задача состоит в корректном установлении и выборе поправочных коэффициентов.

Таким образом, для учета и устранения влияния матричных элементов выбран способ корректировки результатов анализа путем введения поправочных коэффициентов.

Расчет поправочных коэффициентов осуществляли методом «введено– найдено» в сравнении с образцом для оценивания в присутствии матричного элемента Ca в виде CaSO<sub>4</sub> соответствующего его реальному содержанию в пробе при разбавлении в 10 раз.

Для исследований приготовлены следующие модельные смеси:

1. Сульфат кальция 12,9 мг CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, (что составляет 3 % по Ca), 10 мг СОГ - 21 (4) [ГСО №4519-89-4523-89] и 77,1 мг угольного порошка смесь тщательно перемешивали с небольшим добавлением этилового спирта до однородного состояния.
2. Сульфат кальция 8,6 мг CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, (что составляет 2 % по Ca), 10 мг СОГ - 21 (4) и 81,4 мг угольного порошка смесь тщательно перемешивали с небольшим добавлением этилового спирта до однородного состояния.
3. Сульфат кальция 4,3 мг CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, (что составляет 1 % по Ca), 10 мг СОГ - 21 (4) и 85,7 мг угольного порошка смесь тщательно перемешивалась с небольшим добавлением этилового спирта до однородного состояния.
4. Сульфат кальция 12,9 мг CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, (что составляет 3 % по Ca), 10 мг СОГ - 21 (5) и 77,1 мг угольного порошка смесь тщательно перемешивали с небольшим добавлением этилового спирта до однородного состояния.
5. Сульфат кальция 8,6 мг CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, (что составляет 2 % по Ca), 10 мг СОГ - 21 (5) и 81,4 мг угольного порошка смесь тщательно перемешивали с небольшим добавлением этилового спирта до однородного состояния.
6. Сульфат кальция 4,3 мг CaSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, (что составляет 1 % по Ca), 10 мг СОГ - 21 (5) и 85,7 мг угольного порошка смесь тщательно перемешивалась с небольшим добавлением этилового спирта до однородного состояния.

Таблица 9 – Поправочные коэффициенты для корректировки результатов анализа волос, установленные по результатам «введено – найдено» в сравнении с образцом для оценивания в присутствии 3 % Ca в виде CaSO<sub>4</sub> ( $P = 0.95$ ,  $n = 5$ )

Элемент	СО, содержащий 10 мкг/г элемента		СО, содержащий 1 мкг/г элемента	
	Найдено в присутствии 3% Ca, мкг/г	<i>k</i>	Найдено в присутствии 3% Ca мкг/г	<i>k</i>
Ag	8,3 ± 0,5	1,2	0,67 ± 0,03	1,5
Al	8,3 ± 0,5	1,2	0,8 ± 0,05	1,3
Cd	7,1 ± 0,4	1,4	0,63 ± 0,04	1,6
Co	7,3 ± 0,6	1,4	0,68 ± 0,06	1,5
Cr	7,6 ± 0,5	1,3	0,72 ± 0,04	1,4
Cu	8,8 ± 0,5	1,1	0,78 ± 0,02	1,3

Fe	7,3 ± 0.4	1.4	0,83 ± 0.06	1.2
Mn	8,6 ± 0.6	1,2	0,76 ± 0.1	1,3
Mo	8,5 ± 0.7	1,2	0,72 ± 0.5	1,4
Ni	7,2 ± 0.9	1.4	0,62 ± 0.04	1,6
Pb	7,7 ± 0,8	1.3	0,67 ± 0.06	1,5
Sn	7,8 ± 0.6	1.3	0,71 ± 0.09	1.4
Ti	7,5 ± 0.5	1.3	0,75 ± 0.05	1.4
V	7,1 ± 0.4	1.4	0,63 ± 0.04	1,6
Zr	8.5 ± 0.6	1.2	0,59 ± 0.07	1.7

Таблица 10 – Поправочные коэффициенты для корректировки результатов анализа волос, установленные по результатам «введено - найдено» в сравнении с образцом для оценивания в присутствии 2 % Са в виде CaSO<sub>4</sub> ( $P = 0.95$ ,  $n = 5$ )

Элемент	СО, содержащий 10 мкг/г элемента		СО, содержащий 1 мкг/г элемента	
	Найдено в присутствии 2% Са, мкг/г	<i>k</i>	Найдено в присутствии 2% Са, мкг/г	<i>k</i>
Ag	9,5 ± 0,5	1,1	0,77 ± 0,03	1,3
Al	9,6 ± 0,5	1,1	0,86 ± 0,1	1,2
Cd	7,7 ± 0,4	1,3	0,71 ± 0,04	1,4
Co	8,3 ± 0,6	1,2	0,77 ± 0,06	1,3
Cr	9,4 ± 0,5	1,2	0,75 ± 0,04	1,3
Cu	9,2 ± 0,5	1,1	0,83 ± 0,02	1,2
Fe	8,6 ± 0,4	1,2	0,95 ± 0,06	1,1
Mn	9,4 ± 0,6	1,1	0,83 ± 0,07	1,2
Mo	8,5 ± 0,7	1,2	0,76 ± 0,05	1,3
Ni	8.7 ± 0,9	1.2	0,71 ± 0,04	1,4
Pb	8.4 ± 0,8	1,2	0,72 ± 0,06	1,4
Sn	9.5 ± 0.6	1,1	0.85 ± 0.09	1.2
Ti	9.5 ± 0.5	1,1	0,78 ± 0,05	1,3
V	7,9 ± 0.4	1,3	0,74 ± 0.04	1,4
Zr	8,7 ± 0.6	1,1	0,78 ± 0.07	1,3

Таблица 11 – Поправочные коэффициенты для корректировки результатов анализа волос, установленные по результатам «введено – найдено» в сравнении с образцом для оценивания в присутствии 1 % Са в виде  $\text{CaSO}_4$  ( $P = 0.95$ ,  $n = 5$ )

Элемент	СО, содержащий 10 мкг/г элемента		СО, содержащий 1 мкг/г элемента	
	Найдено в присутствии 1% Са, мкг/г	$k$	Найдено в присутствии 1% Са, мкг/г	$k$
Ag	$10,0 \pm 0,5$	1,0	$0,91 \pm 0,03$	1,1
Al	$10,0 \pm 0,5$	1,0	$1,05 \pm 0,1$	0,95
Cd	$9,0 \pm 0,4$	1,1	$0,84 \pm 0,04$	1,2
Co	$10,9 \pm 0,6$	0,92	$0,77 \pm 0,06$	1,3
Cr	$9,4 \pm 0,5$	1,1	$0,88 \pm 0,04$	1,1
Cu	$10,4 \pm 0,5$	0,96	$1,03 \pm 0,08$	0,97
Fe	$9,09 \pm 0,4$	1,1	$0,95 \pm 0,06$	1,0
Mn	$9,9 \pm 0,6$	1,0	$1,1 \pm 0,1$	0,9
Mo	$11,2 \pm 0,7$	0,9	$1,1 \pm 0,5$	0,9
Ni	$9,2 \pm 0,9$	1,1	$0,83 \pm 0,04$	1,2
Pb	$9,4 \pm 0,8$	1,1	$0,81 \pm 0,06$	1,2
Sn	$9,7 \pm 0,6$	1,0	$0,92 \pm 0,09$	1,1
Ti	$9,9 \pm 0,5$	1,0	$0,93 \pm 0,05$	1,1
V	$9,3 \pm 0,4$	1,1	$0,85 \pm 0,04$	1,2
Zr	$9,0 \pm 0,6$	1,1	$0,83 \pm 0,07$	1,2

**Вывод:** Как следует из таблиц 9–11, величина поправочного коэффициента зависит от содержания как матричного, так и определяемого элементов. При низких содержаниях кальция в пробах (что характерно для мужских волос) поправочные коэффициенты для разных содержаниях определяемых элементов близки и приближаются к единице. Поэтому при анализе их можно не учитывать. При средних содержаниях кальция поправочные коэффициенты необходимо учитывать, усредняя для разных диапазонов концентраций определяемых элементов, вследствие их близости. При высоких содержаниях кальция (характерно для женских волос), поправочные коэффициенты следует учитывать индивидуально для каждого диапазона определяемых элементов.

Установленная возможность корректировки результатов анализа зольного остатка волос с помощью поправочных коэффициентов использована для метрологической аттестации методики.



### 3.8 Расчетные формулы для представления результатов анализа волос

#### 3.8.1 Расчетная формула для представления результатов анализа макроэлементов, лежащих в диапазоне 10–200 мкг/г и более

По градуировочным графикам, построенным с помощью СО в координатах ( $\lg I - \lg C$ ), экспериментально находят массовые концентрации (мкг/г) определяемых элементов в трех холостых пробах ( $C_{\text{хол}}$ , мкг/г), а также в трех концентратах проб волос ( $C_{\text{изм}}$ , мкг/г). Расчет концентраций макроэлементов в анализируемых пробах *волос* следует проводить по следующей формуле:

$$c_x = \eta \frac{(\bar{c}_{\text{изм}} - \bar{c}_{\text{хол}}) \cdot q}{Q} \quad (18)$$

где  $c_x$  - массовая концентрация определяемого элемента в анализируемой пробе, мкг/г;  
 $\bar{c}_{\text{изм}}$  - массовая концентрация определяемого элемента в концентрате анализируемой пробы, мкг/г;  
 $\bar{c}_{\text{хол}}$  - массовая концентрация определяемого элемента в концентрате холостой пробы, мкг/г;  
 $Q$  - масса исходной пробы волос, г;  
 $q$  - масса золы волос, г;  
 $\eta$  - степень разбавления золы волос графитовым порошком;

#### 3.8.2 Расчетная формула для представления результатов анализа микроэлементов, лежащих в диапазоне 1-10 мкг/г и менее

Для получения достоверных результатов при анализе микроэлементов необходимо учитывать поправочный коэффициент  $k$ , используя для расчета формулу:

$$c_x = \eta \frac{(\bar{c}_{\text{изм}} - \bar{c}_{\text{хол}}) \cdot q}{Q} k \quad (19)$$

где  $c_x$  - массовая концентрация определяемого элемента в анализируемой пробе, мкг/г;  
 $\bar{c}_{\text{изм}}$  - массовая концентрация определяемого элемента в концентрате анализируемой пробы, мкг/г;  
 $\bar{c}_{\text{хол}}$  - массовая концентрация определяемого элемента в концентрате холостой пробы, мкг/г;

$Q$  - масса исходной пробы волос, г;

$Q$  - масса золы волос, г;

$\eta$  - степень разбавления золы волос графитовым порошком;

$k$  - поправочный коэффициент, учитывающий влияние основы.

### 3.9 Предварительная оценка правильности результатов количественного спектрального анализа макро– и микроэлементов в сравнении с другими методами

Перед тем как перейти к метрологической аттестации методики была проведена оценка правильности выполняемых анализов альтернативными методами (таблица 12). Для определения содержания элементов основы использовано разбавление зольного остатка волос графитовым порошком в соотношении 1:200, а для определения микропримесей – 1:10. Расчет результатов определения макро- и микроэлементов проводили по формулам (15) и (16). Анализ значимости расхождения оценивали по двухвыборочному критерию Стьюдента для независимых выборок, уравнения 17, 18. Из таблицы 12 видно, что расхождение результатов, полученных разными методами, незначимо на фоне случайного разброса, что подтверждает ожидаемую правильность получаемых результатов.

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{S_g^2(x)}} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} \quad (20)$$

$$S_g^2 = \frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \quad (21)$$

Таблица 12 – Проверка правильности анализа волос методом ДАЭС с МАЭС сравнением с другими методами ( $P = 0,95$ ,  $n = 5$ ),  $t_{\text{таб.}} = 2,78$ .

Элемент	Содержание элементов (мкг/г), найденное методами			$t_{\text{экс.}}$
	ДАЭС с МАЭС	ИСП-МС	Другие методы	
Ca	5590 ± 280	5260 ± 350	-	2,05
Mg	798 ± 40	835 ± 45	-	2,24
Zn	470 ± 68	-	537 ± 35 (ААС)	2,43
Zr	79 ± 4	71 ± 8	-	2.49

Продолжение таблицы 12

Fe	$37 \pm 2$	-	$34 \pm 4$ (ААС)	1,86
Sr	$33 \pm 4$	$29 \pm 3$	-	2,22
Cu	$23,5 \pm 1,2$	$22 \pm 2$	-	1,58
P	$16,3 \pm 0,9$	-	$15,7 \pm 0,6$ (СФ)	1,55
Al	$12,5 \pm 0,6$	$13,8 \pm 0,7$	-	2,73
Ni	$4,8 \pm 0,7$	$5,5 \pm 0,2$	-	2,70
Mn	$4,6 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,5$	-	2,59
Sn	$2,6 \pm 0,3$	$2,9 \pm 0,3$	-	1,97
Ti	$2,5 \pm 0,5$	$3,0 \pm 0,5$	-	1,96
Pb	$0,31 \pm 0,03$	$0,24 \pm 0,07$	-	2,57

**Вывод:** предварительные данные по созданию методики указывают на возможность перехода к метрологической аттестации.

### 3.10 Показатели качества измерений после метрологической аттестации методики

Метрологическую аттестацию методики проводили по РМГ 61-2010 [106]. Для практического удобства использования значений показателей качества измерений методики анализа, диапазон действия методики определения элементов в зольном остатке волос целесообразно разбить на диапазоны для каждого определяемого элемента, в пределах которых изменением значений показателей качества методики, в зависимости от содержания определяемых элементов, можно пренебречь. Деление на диапазоны осуществляли на основе показателя внутрилабораторной прецизионности. Для этого устанавливали границы диапазонов, для которых относительные значения  $\sigma_{РЛ}$ , соответствующие верхним и нижним границам диапазона, допускается признать однородными, т.е. отношение максимальной дисперсии к минимальной не превышает двух. Найденные максимальные относительные значения показателей повторяемости и внутрилабораторной прецизионности принимали постоянными в установленных диапазонах. При метрологической аттестации расчётные данные показали, что значения характеристики систематической погрешности не превышают 4 % и незначимы на фоне случайного разброса данных.

В таблице 13 указаны приписанные характеристики погрешностей, которые представлены в свидетельстве о метрологической аттестации № **08–47/380.01.00143-2013.2016**.

Таблица 13 – Диапазоны измерений, относительные значения показателей точности, повторяемости и внутрिलाбораторной прецизионности методики *(для волос)* при доверительной вероятности  $P=0,95$

Определяемые показатели	Диапазон определений, мкг/г	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_{r_d}$ , %	Показатель внутрिलाбораторной прецизионности (среднеквадратическое отклонение внутрिलाбораторной прецизионности), $\sigma_{R_d}$ , %	Показатель точности (границы, в которых находится погрешность методики), $\delta$ , %
Ca	200–5000	1,7	6	10
Mg	10–500	1,6	6	11
P	10–500	1,8	6	11
Si	10–500	1,3	5	10
Zn	10–500	4	5	10
Al	1–10	8	8	16
Fe	2–20	1,8	7	14
Cu	2–20	6	7	11
Mn	1-10	2,4	7	13
As	0,1–1	10	13	25
Pb	0,1–1	2,5	10	20
Ti	1–10	4	10	19
Cd	0,1–1	8	10	19
Co	0,1–1	4	8	15
Cr	0,1–1	6	8	16
Sn	0,1–1	4	8	16
Mo	0,1–1	3	7	14
Ni	0,1–1	9	10	19
Zr	0,1–1	5	9	18
Ag	0,1–1	1,9	8	16
V	1–10	5	8	15

### 3.11 Расчет пределов повторяемости и внутрилабораторной прецизионности

Расчеты пределов повторяемости (сходимости) и внутрилабораторной прецизионности используемые для проверки приемлемости результатов анализа, рассчитываем по РМГ 61-2010.

1. Значение предела повторяемости (в % отн.) рассчитывали по формуле:

$$r = 2,77 \cdot \sigma_r \text{ при } n = 2 \text{ и } P = 0,95, \quad (22)$$

поскольку в методике рекомендуется проведение двух параллельных определений (по п. 5.2.1.5 РМГ 61-2010). Величина  $r$  в относительных процентах представлена в таблице 14.

2. Значение предела внутрилабораторной прецизионности (в % отн.) рассчитывали (по п. 5.2.1.5 РМГ 61-2010) по формуле:

$$R = 2,77 \cdot \sigma_R \text{ при } n = 2 \text{ и } P = 0,95. \quad (23)$$

Величина  $R$  в относительных процентах представлена в таблице 14.

Таблица 14 – Относительные значения пределов повторяемости (сходимости) и внутрилабораторной прецизионности методики анализа волос при доверительной вероятности  $P=0,95$ .

Определяемые показатели	Диапазон определений, мкг/г	Предел повторяемости (сходимости), $r_{\text{отн}}$ , % (для двух результатов параллельных определений, $n=2$ )	Предел внутрилабораторной прецизионности (для двух результатов измерений, $m=2$ ); $R_{\text{отн}}$ , %
Ca	200-5000	5	14
Mg	10-500	4	14
P	10-500	5	15
Si	10-500	4	12
Zn	10-500	12	14
Al	1-10	21	22
Fe	2-20	5	19
Cu	2-20	16	15
Mn	1-10	7	18
As	0,1-1	27	34
Pb	0,1-1	7	27,6
Ti	1-10	10	27

Cd	0,1-1	21	26
Co	0,1-1	10	20
Cr	0,1-1	16	21
Sn	0,1-1	12	21
Mo	0,1-1	9	18
Ni	0,1-1	24	27
Zr	0,1-1	15	25
Ag	0,1-1	5	21
V	1-10	15	20

**Выводы:** Разработана и метрологически аттестована методика определения массовой концентрации элементов в пробах волос пациентов методом дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии с многоканальным анализатором эмиссионных спектров. Методика предназначена для использования в научно-исследовательской лаборатории мониторинга окружающей среды (НИЛ МОС), входящей в состав аккредитованного Томского регионального центра коллективного пользования Томского государственного университета.

## Глава 4 Аналитическое сопровождение создания лекарственных препаратов для преодоления экстремальных нагрузок

### 4.1 Модельная схема создания лекарственного препарата

Растения являются лучшими природными источниками макро- и микроэлементов, так как в них элементы образуют комплексные и металлоорганические соединения, что обуславливает их активность, помогает лучше усваиваться в организме человека. Микроэлементы имеют важную роль в образовании органических биологически активных веществ в живых организмах. Элементный состав необходимо рассматривать как важную составную часть лекарственных средств, получаемых из растительного сырья. Большинство элементов периодической таблицы Д.И. Менделеева, в частности литий, проявляют различную биоактивность. Для катиона лития свойственны определенные важные характеристики. В организме он высвобождает ионы магния из клеточного депо, поэтому снижается скорость передачи нервных импульсов, что приводит к уменьшению возбудимости центральной нервной системы живых существ. Литий способствует увеличению потребления глюкозы, синтезу гликогена и повышению уровня инсулина в сыворотке крови. Он аккумулируется в легких, лимфоузлах, кишечнике, костях, надпочечниках [107]. Обнаружены ритмомоделирующие особенности и влияние соединений лития на циркадианные ритмы [108]. Но влияние солей лития, на процессы, протекающие в организме, в частности его действие в ЦНС, изучены недостаточно [109]. В ходе проведенных экспериментов обнаружена способность некоторых растений сем. Rosaceae избирательно накапливать литий. К их числу относится репешок волосистый *Agrimonia pilosa* Ledeb (сем. Rosaceae). Это растение широко применяется в народной медицине как Российской Федерации, так и стран Востока, как гепатопротекторное, противомаларийное средство. Родственные подвиды репешка включены в фармакопеи Болгарии и Китая. Научной медициной также выявлены различные виды биологической активности: противоопухолевая, гиполипидемическая, противовирусная, антиоксидантная и др. [109–111]. Химический состав растения содержит разные группы биоактивных веществ (БАВ), таких как флавоноиды (кверцетин, апигенин, лютеолин и их гликозиды), дубильные вещества смешанной группы, полисахариды, витамины К, С, Е, макро- и микроэлементы [112].

Для создания лекарственных препаратов на основе растений сем. Rosaceae, избирательно накапливающих литий, необходимо было разработать алгоритм аналитического

сопровождения на разных стадиях испытаний. Алгоритм должен включать в себя процедуры отбора проб и пробоподготовок, выбор метода анализа, учет мешающих влияний, предварительную оценку метрологических характеристик.

Структурно-модельная схема проведения химико-аналитических исследований представлена на рисунке 23.



Рисунок 23 - Модельная схема этапов химико-аналитического контроля динамики накопления лития при создании лекарственных средств на основе растений семейства розоцветных (\*Биологически активные вещества).

На первом этапе (рисунок 23) проводили скрининг зольных остатков лекарственных растений методом эмиссионной спектрометрии с использованием комплекса «Гранд» с многоканальным анализатором эмиссионных спектров (МАЭС) и спектрометра «SOLAAR серии S».

Второй этап аналитического сопровождения (рисунок 23) включает в себя анализ упаренных досуха водных вытяжек с целью определения в них лития для последующего их введения в организм подопытных животных.

Третий этап (рисунок 23) основан на оптимизации условий спектрального определения лития в сухих остатках после фракционирования и экстрагирования биологически активных веществ.



*Четвертый этап* (рисунок 23) предполагает спектральное определение лития в мозге подопытных крыс, высушенном до неизменной массы.

Далее в разделах 4.1.1 – 4.1.3 предлагаемые этапы аналитического сопровождения рассмотрены более детально.

#### 4.1.1 Спектральный анализ растений и водных вытяжек

Надземную часть репешка волосистого собирали в смешанном лесу в июле 2013 г. в фазу цветения (в окрестности Сибирских городов Асино, Томск, Абакан). Высушивание сырья проводили воздушным способом, фармакопейными способами измеряли влажность и зольность, измельчали и просеивали через сито с размером отверстий 2–3 мм.

Подготовку проб растений к анализу проводили по методу сухого озоления. Высушенные до постоянной массы сырье помещали в кварцевые тигли и озоляли при температуре 450–500 °С. Количественное определение макроэлементов и микроэлементов в концентратах исследуемых растений проводили методом атомно-эмиссионной спектрометрии с использованием комплекса «Гранд» с многоканальным анализатором эмиссионных спектров (МАЭС). Для количественного определения макроэлементов зольный остаток растений разбавляли графитовым порошком в соотношении 1:100, а для определения микроэлементов – 1:10. Разбавление проводили графитовым порошком особой чистоты. Взвешенные части проб и стандартных образцов (СО) состава графитового коллектора микропримесей СОГ-37 (ГСО 8487-2003) [102] массой 0,015 г испаряли из канала анодного электрода (глубина, диаметр кратера – 0,004, 0,0045 м). Катодом служил электрод, заточенный на конус (в работе использовали графитовые электроды для спектрального анализа ОСЧ-7-4). Прежде чем приступить к регистрации спектров в электроды с пробами и СО вносили микродозатором по 20 мкл полуспиртового раствора NaCl, содержащего 5 % мас. натрия. Условия регистрации спектров: постоянный ток 13 А; расстояние между электродами – 0,003 м; ширина щели –  $3.0 \cdot 10^{-5}$  м; диафрагма – 0.005 м; накоплений – 160; длительность накоплений – 125 мс; полная экспозиция – 20 с.

Количественное определение щелочных металлов проводили методом пламенной фотометрии на приборе «SOLAAR серии S» производства «Thermoelectron» (США).

Для анализа К, Na, Li методом пламенной фотометрии зольные остатки растворяли при умеренном нагревании в 2–3 мл HCl (1:1), разбавляли в 2 раза, фильтровали полученные растворы в мерные колбы объемом 25 мл, до риски заполняли бидистиллированной водой.

Анализ проводили на спектрометре «SOLAAR серии S» в режиме эмиссии. Результаты представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Содержание макроэлементов и лития (мкг/г) в зольных остатках растения *Agrimonia pilosa* в зависимости от места сбора ( $n=5$ ,  $P=0.95$ ).

Элемент Место сбора	Li*	Ca	Fe	K*	Mg	Na*	P	Si	Zn
Томск	190 ±10	90750 ±4500	3640 ±360	186570 ±9400	22420 ±2200	2150 ±210	15300 ±750	4240 ±420	4900 ±450
Колпашево	74 ±4	124400 ±6200	7950 ±400	17400 ±800	31600 ±1500	1790 ±90	16000 ±800	28150 ±1400	1690 ±90
Абакан	80 ±4	135300 ±6700	8100 ±800	149800 ±7500	33800 ±1700	1740 ±90	12790 ±650	19680 ±850	1230 ±120

\* - метод пламенной фотометрии

Таблица 16 – Содержание элементов в сырье и водной вытяжке растений *Agrimonia pilosa* (сбор г. Томск, июль 2013 г.) ( $n=5$ ,  $P=0,95$ ).

Элемент	Концентрация в сырье <i>Agrimonia pilosa</i> (мкг/г)	Концентрация элементов в водной вытяжке мг/дм <sup>3</sup> (масса сырья 1 г, объем вытяжки 60 мл)
Al	95 ± 6	1,0 ± 0,1
B	5 ± 0,4	0,010 ± 0,001
Ba	26 ± 2	0,20 ± 0,02
Ca	10350 ± 230	61 ± 3
Fe	114 ± 8	1,2 ± 0,1
Mg	3120 ± 115	40 ± 2
Mn	124 ± 12	0,86 ± 0,01
P	1488 ± 100	10 ± 1
Sn	488 ± 27	4,7 ± 0,2
Si	2 ± 0,1	–
Sr	49 ± 2	0,20 ± 0,01
K*	17957 ± 584	282 ± 20
Na*	221 ± 16	4,6 ± 0,3
Li*	20 ± 1	0,050 ± 0,002

\* – метод пламенной фотометрии

Как следует из данных таблицы 15, зола растений содержит, главным образом, следующие элементы (в порядке их убывания в пробах):  $K > Ca > Mg > Si > P > Fe > Zn$ .

Причем содержание калия и кальция, в золе растений, существенно превышает содержание других элементов.

Скрининг на содержание макроэлементов в зольных остатках растений (таблица 15) показал, что основным компонентом, который может оказывать мешающее влияние на определение лития методом пламенной фотометрии является калий с низким потенциалом ионизации (4,19 эВ). Остальные элементы, входящие в состав пробы, не должны оказывать влияние на формирование аналитического сигнала при проведении спектрального анализа лития методом пламенной фотометрии.

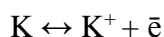
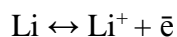
Водный экстракт (таблица 16) получали по следующим способом: сухое измельченное растительное сырье заливали бидистиллированной водой в соотношении 1:20 в колбе с обратным холодильником и нагревали на водяной бане при 90 °С в течение 1 ч. Затем растительное сырье фильтровали и проводили повторную экстракцию еще два раза в тех же условиях. Далее полученные экстракты объединяли, проводили фильтрацию под вакуумом и концентрировали на ротационном испарителе при  $t < 50$  °С до получения густого остатка. Сгущенные экстракты, методом конвективной сушки, высушивали досуха. Анализ элементов, сопутствующих литию, в водных экстрактах растения *Agrimonia pilosa* осуществляли с помощью спектрометра «Гранд» после разбавления сухого остатка графитовым порошком в десять раз. Для определения содержания щелочных элементов сухие остатки переводили в раствор 2–3 мл 6 М HCl при умеренном нагревании с последующим разбавлением в 2–3 раза. Далее раствор фильтровали в мерные колбы вместимостью 25 мл, доводили до риски бидистиллированной водой. Измерения проводили на атомно-абсорбционном спектрометре SOLAAR, серии S, производства «Thermoelectron» (США) с усиленной дейтериевой коррекцией фона, с пламенным атоизатором в режиме эмиссии, результаты представлены в таблице 16. Из полученных результатов следует, что в водных экстрактах матричное влияние на определение лития может оказывать калий.

Если соотношение определяемых щелочных элементов в растворе превышает 10 [113], то уже следует ожидать взаимное мешающее влияние. Для оценки мешающего влияния матричного элемента калия был поставлен эксперимент на модельных образцах. Определение лития проводилось в присутствии калия в соотношении, соответствующему реальной пробе (таблица 17).

Таблица – 17 Определение мешающего влияния калия при определении лития в водных вытяжках растений *Agrimonia pilosa* (n=5, P=0,95)

Наименование пробы	Среднее содержание преобладающего матричного элемента калия в водной вытяжке, мг/дм <sup>3</sup>	Содержание лития в анализируемом растворе, мг/дм <sup>3</sup>		
		Введено	Найдено без введения в стандарты калия	Найдено с введением в стандарты калия
Экстракт водной вытяжки	300	0,05	0,052 ± 0,004	0,068 ± 0,004

Механизм мешающего влияния калия может заключаться в усилении интенсивности излучения лития в присутствии легко ионизирующего атома калия за счет смещения равновесия в сторону атомизации лития:



Для преодоления мешающего влияния существует ряд способов [113]:

1. Содержание мешающего элемента находят раньше, чем содержание определяемого элемента. Для построения градуировочных графиков соответствующее количество мешающего элемента вводят в стандартные растворы.
2. В анализируемый раствор вводят спектроскопический буферный раствор (CsCl и Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)
3. Количественное определение проводят методом добавок.

Наиболее точные результаты получены при использовании первого способа.

Таким образом, перед спектральным анализом водных вытяжек на содержание лития в растительном сырье рекомендуется первоначально определить содержание калия в анализируемом растворе. Затем ввести корректирующую добавку калия в стандартные образцы и только после этого проводить контрольные измерения лития.

#### 4.1.2 Спектральный анализ биологически активных веществ (БАВ)

Так как химический состав *Agrimonia pilosa* представлен различными группами БАВ [114], в работе сделана попытка получить отдельные фракции из водного экстракта репешка волосистого с доминирующим содержанием лития, для последующего выделения индивидуальных веществ, ответственных за проявление ритмомоделирующего действия.

Выделение БАВ из экстракта проводили общепринятыми фитохимическими способами, согласно разработанной схеме [115]. После проведения сухой минерализации и последующего растворения по описанной выше методике (п. 4.1.1), сухие экстракты анализировали на содержание щелочных и щелочноземельных элементов. Полученные результаты представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Содержание Li, Na, K, Ca и Mg в экстрактах водных вытяжек и фракциях БАВ растения *Agrimonia pilosa* ( $n=5$ ,  $P=0,95$ )

№ п/п	Экстракты и фракции БАВ <i>Agrimonia pilosa</i>	Содержание элемента, мкг/г сухого экстракта/фракции				
		Li	Na, $n \cdot 10^{-3}$	K, $n \cdot 10^{-3}$	Ca, $n \cdot 10^{-3}$	Mg, $n \cdot 10^{-3}$
1	<b>Экстракт подземной части (корни)</b>	9,3±1.0	2.9±0.3	15.8±1.5	«н.д.»	«н.д.»
2	Хлороформная (корни)	1.7±0.2	0.49±0.04	0.25±0.02	0.40±0.07	0.10±0.02
3	Этилацетатная (корни)	<0.05	0.50±0.04	0.15±0.01	0.050±0.001	0.0007±0.0002
4	Бутанольная (корни)	1.0±0.1	0.67±0.06	2.4±0.1	0.37±0.07	0.090±0.008
6	Дубильные вещества (корни)	3.4±0.3	3.5±0.2	12.1±0.6	11.0±1.0	1.7±0.3
7	Водорастворимые полисахариды (корни)	1.7±0.2	0.63±0.04	28±2	10.0±1.0	5.4±0.4
8	Кислоторастворимые полисахариды (корни)	3.2±0.3	0.32±0.02	2.8±0.2	14±2	0.68±0.07
9	Фракция пектинов (корни)	0.60±0.07	0.55±0.03	3.4±0.2	0.49±0.09	2.2±0.4
10	<b>Экстракт надземной части (листья)</b>	8.6±1.0	1.1±0.1	38±4	«н.д.»	«н.д.»
11	Дубильные вещества (листья)	2.8±0.3	2.6±0.3	4.2±0.2	3.9±0.7	1.4±0.2
12	Водорастворимые полисахариды (листья)	1.7±0.2	0.40±0.02	0.52±0.03	32±6	2.2±0.4
13	Кислоторастворимые полисахариды (листья)	3.7±0.3	3.4±0.2	3.7±0.2	28±5	1.7±0.3
14	Фракция пектинов (листья)	0.24±0.03	0.60±0.03	0.60±0.04	0.58±0.09	0.20±0.03

Примечание: «н.д.» – нет данных (содержание элемента не определялось)

Установлено, что ритмомоделирующее действие оказывает как фракция ВРПС, так и фракция ДВ, при этом последняя демонстрирует более высокую активность. Водный экстракт, очищенный от лития, не проявил ритмомодулирующую активность. Подтверждено, что величина и характер ритмомоделирующей активности зависят от концентрации лития и природы органических компонентов – носителей ионов лития. Выявлена перспективная фракция водного экстракта репешка волосистого для дальнейшего изучения и создания на ее основе препарата с высокой биологической активностью.

При определении лития для устранения матричных влияний предварительно рекомендовано проводить корректировку по калию выше описанным способом (гл. 4 п. 4.1.1), в некоторых случаях целесообразно корректировку проводить совместно по калию и натрию. Матричные элементы необходимо вводить в стандартные растворы в строгом соответствии с их концентрацией в исследуемой пробе.

#### 4.1.3 Спектральный анализ подопытных животных

Пробоподготовка. Спектральный анализ подопытных животных предполагает выполнение анализа мозговой ткани либо других органов подопытных животных, которые получали экстракты и фракции БАВ, а также интактных животных. Для этого биологические ткани высушивали до стабильной массы в сушильном шкафу при температуре  $100 \pm 5$  °С.

Для оптимизации условий и оценки возможной потери лития на стадии пробоподготовки был проведен эксперимент на модельных образцах, включающий, предварительное обугливание воздушно сухого образца мозга крыс концентрированной серной кислотой. Для этого две навески мозга (интактная проба без введения лития) массой по 150 мг перенесли в предварительно прокаленные и взвешенные кварцевые чашки. В каждую из них вводили 0,05 мл раствора лития с концентрацией 50 мг/дм<sup>3</sup>. Далее одну из этих чашечек нагрели на плите и по каплям добавляли 0,1 мл конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, выдерживая некоторое время, до полного обугливания образца, вторая чашка нагревалась параллельно без добавления кислоты. Затем обе чашки с пробой помещали в муфельную печь и озоляли при  $t = 450\text{--}500$  °С 3 часа, полученные зольные остатки переводили в раствор 2 мл HCl (1:1), фильтровывали в колбу объемом 25 мл и доливали до риски бидистиллированной водой.

Определение лития проводили на спектрометре «SOLAAR серии S». Результаты представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Оценка потерь в процессе пробоподготовки мозга крыс методом «введено–найдено» ( $n=3$ ,  $P=0,95$ ).

Введено лития, мг/дм <sup>3</sup>	Найдено лития, мг/дм <sup>3</sup>	
	Без обугливания H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	С обугливанием H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
0,065	0,046±0,006	0,070±0,005

Эксперимент показал, что перед озолением образцов тканей подопытных животных необходимо проводить процедуру предварительного обугливания серной кислотой, которая частично устраняет улетучивание лития из анализируемой пробы.

В работе так же исследован альтернативный способ разложения тканей подопытных животных, заключающийся в микроволновом разложении образцов в смеси 7 мл концентрированной HNO<sub>3</sub> и 2 мл H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Для проведения эксперимента использована система микроволнового разложения Milestone Start D (Италия) и система отитки кислот Milestone SubPUR (Италия). Вскрытие пробы проводилось при температуре 200°C и мощности 700 Вт в течение 30 мин.

Результаты анализа проб с помощью микроволнового разложения печи (таблица 20) оказались занижены в отличие от пробоподготовки с применением сухого озоления с предварительным обугливанием. Возможно, это связано с тем, что на стадии микроволнового разложения разрушение органических веществ, входящих в состав тканей подопытных животных, осуществляется не полностью, в связи с этим происходит задержка поступления связанного лития в пламенную зону атомизации, что приводит к занижению аналитического сигнала. Также органические составляющие могут влиять на реологические свойства раствора. Поэтому пробоподготовку для метода пламенной фотометрии при анализе тканей подопытных животных рекомендуется проводить методом сухого озоления с предварительным обугливанием H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Таблица 20 – Выбор способа пробоподготовки при анализе мозговой ткани подопытных крыс на содержание лития ( $n=3$ ,  $P=0,95$ ).

Введено, лития в желудочно-кишечный тракт подопытных крыс в виде суспензии, мкг/г	Найдено лития в мозгу подопытных крыс, мкг/г	
	Микроволновое вскрытие пробы	Озоление пробы с предварительным обугливанием H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
23	0,46±0,002	0,77±0,003
90	0,69±0,003	1,22 ±0,05



Для оценки возможности влияния матричных элементов на определение лития проведен полный количественный анализ сопутствующих элементов (таблица 21) входящих в зольный остаток мозговой ткани подопытных крыс.

Таблица – 21 Содержание макроэлементов в золе мозга подопытных крыс ( $n=5, P=0,95$ ).

Элемент	Содержание элемента (мкг/г), определенное методом	
	ДАЭС с МАЭС	ПФ
Ca	3860±390	«←»
Mg	8400±850	«←»
P	95300±4500	«←»
Na	«←»	31890±1600
K	«←»	145020±7500

Примечание: «←» – определение элемента данным методом не проводилось.

Зольный остаток мозга подопытных крыс состоит из следующих элементов (в порядке их убывания в пробах):  $K > P > Na > Mg > Ca$  и, главным образом, представлен по видимому фосфатом калия ( $K_3PO_4$ ). Следовательно, для спектрального анализа примесей, лития, необходимо в стандартные образцы так же вводить соответствующую корректирующую добавку калия на стадии приготовления стандартных растворов, как описано в (гл 4, п. 4.1.1). Результаты, подтверждающие необходимость введения корректирующей добавки приложены в таблице 22.

Таблица – 22 Влияние калия на результаты определения лития в модельном растворе методом «введено–найдено» ( $n=5, P=0,95$ )

Наименование пробы	Среднее содержание преобладающего макроэлемента калия в растворе, мг/дм <sup>3</sup>	Содержание лития в анализируемом растворе, мг/дм <sup>3</sup>		
		Введено	Найдено без добавления К	Найдено в присутствии К
Модель, соответствующая мозговой ткани крыс по содержанию калия в растворе	200	0,05	0,052±0,03	0,063±0,02

Результаты анализа лития в мозговой ткани подопытных крыс с учетом выше перечисленных поправок, внесенных в процедуру пробоподготовки, с применением в качестве стат. обработки метод «ящик с усами» представлены на рисунке 20.

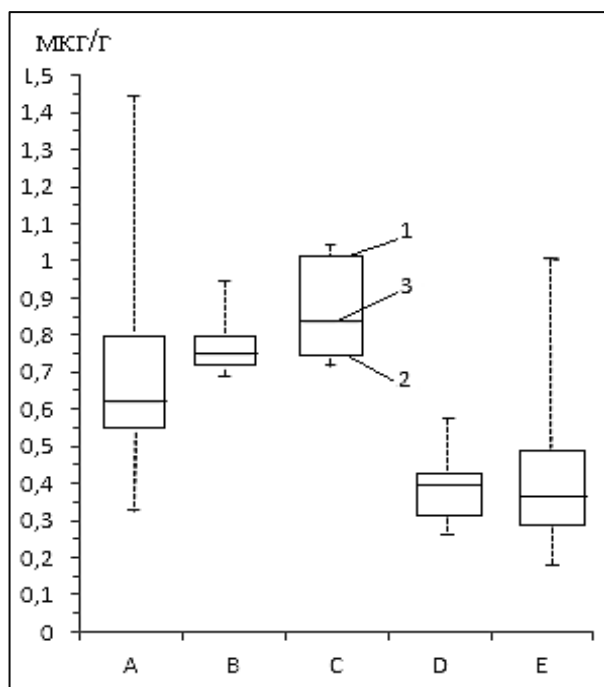


Рисунок – 20 Содержание лития в мозге подопытных крыс в зависимости от состава получаемых ими экстрактов и фракций (статистическая обработка итогов эксперимента с применением «ящичка с усами»,  $n=8$ ; 1,2 – нижний и верхний квартили, 3 – медиана).

А – интактная группа;

В – водорастворимые полисахариды, полученные из водного экстракта листьев репейника волосистого;

С – дубильные вещества из водного экстракта листьев репейника;

Д – водный экстракт корней репейника;

Е – водный экстракт листьев репейника.

Таким образом, при анализе результатов проведенных нами испытаний, выбраны оптимальные процедуры аналитического сопровождения разработки лекарственных препаратов, которые включают выбор вариантов пробоподготовки и соответствующих методов анализа. Определены оптимальные условия контроля содержания сопутствующих литию химических элементов, оказывающих матричное влияние. Нами впервые осуществлено аналитическое сопровождение скрининга БАВ, обладающих ритмомоделирующим эффектом. Экспериментально установлено, что фракции ВРПС и ДВ увеличивают содержание лития в мозговой ткани крыс на 45 % и 82 %, соответственно, по сравнению с интактной группой. Совместно с сотрудниками СибГМУ установлено, что фракция ВРПС проявляет тонизирующее (возбуждающее) действие на ЦНС без проявления ритмомоделирующих эффектов, а фракция ДВ, в свою очередь, показывает противоположное фармакологическое действие (седативный эффект, свойственный солям лития) и проявляет ритмомодулирующую активность.

## Глава 5 Практические применения разработанных методик и аналитических подходов

### 5.1 Оценка биологической роли химических элементов в формировании элементного статуса человека и в диагностике заболеваний

Для оценки элементного статуса организма необходима информация о химическом составе различных биосубстратов человека. Состав волос, как орган экскреции, отражает процессы, годами протекающие в организме, в то время как кровь и ее компоненты являются эффективно регулируемые средами, и любые отклонения от нормы могут свидетельствовать о наличии патологии. Из литературных источников известно, что, состав химический элементов волос лучше остальных биосред отражает воздействие на человека как повышенных концентраций химических элементов, так и обеспечение физиологических потребностей в них. Волосы способны накапливать в себе все те химические соединения, которые присутствуют в организме или в окружающей среде. Анализ минерального состава волос является аналитическим тестом, находящим широкое применение в диагностике патологических состояний. Многие заболевания организма тесно связаны с изменениями концентраций микроэлементов в тканях. Если содержание химических элементов является оптимальным, человек хорошо себя чувствует и не испытывает проблем. Когда же баланс нарушается, возникают патологические изменения в состоянии здоровья, которые способны привести к развитию болезней. Из литературных данных [116] известно, что 80 % населения страдает от более или менее выраженного дисбаланса (отклонение от нормы) микроэлементов. Причин для нарушения баланса множество: стрессы, недостаточное поступление в организм микроэлементов с пищей, радиация (повышенная солнечная активность, озоновые дыры), атаки токсичных веществ (повышенная концентрация выхлопных газов в атмосфере крупных городов) и другие причины. Все это приводит к дисбалансу в организме современного человека жизненно необходимых химических элементов. Хронический дисбаланс микроэлементов ведет к серьезным изменениям функций организма (отклонении в обмене белков, жиров, углеводов, витаминов и выработке ферментов, ослаблении иммунитета, нарушении в эндокринной и нервной системах) и вызывает психоневрологические расстройства, онкологические заболевания, воспалительные поражения органов и тканей.

Таким образом, чтобы обезопасить свою жизнь от серьезных заболеваний, рекомендуется проводить элементный анализ волос. На примере образцов волос добровольцев, принявших участие в эксперименте, проживающих на территории Томской области, с помощью разработанной методики выполнен анализ (Таблица 23) и проведена оценка элементного статуса, которая помогла определить общее состояние организма участников эксперимента, а также дала возможность предупредить развитие нарушений, вызванных отклонением содержания тех или иных элементов. Образцы волос, предоставленные для анализа, были отобраны в соответствии с правилами пробоотбора (Гл. 3, п. 3.1.).

Таблица 23 – Элементный состав волос добровольцев (выборка 6 человек), проживающих на территории Томской области МУ (свидетельство о метрологической аттестации № 08–47/380.01.00143-2013.2016).

Определяемый элемент	Содержание элементов в волосах, мкг/г							Референтные значение [106]
	Муж. 90 лет	Муж. 68 лет	Муж. 60 лет	Муж. 56 лет	Жен. 90 лет	Жен. 55 лет	Жен. 52 года	
Ag	0,05±0,01	0,07±0,01	0,16±0,03	0,21±0,04	0,05±0,01	0,020±0,004	0,73±0,15	0,01-1
Al	3,68±0,74	4,03±0,81	74,01±14,80	4,81±0,96	6,20±1,24	5,98±1,19	12,11±2,42	1-40
As	1,69±0,34	1,82±0,36	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	0,2-3
B	0,020±0,004	0,030±0,006	не обнаружено	0,25±0,05	0,010±0,002	0,0020±0,0004	0,29±0,06	0,4-5,0
Ba	1,57±0,31	0,69±0,14	4,53±0,91	3,14±0,63	4,50±0,91	3,87±0,74	1,64±0,33	0,2-6
Be	0,020±0,004	0,0020±0,0004	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	0,005-0,1
Bi	0,31±0,06	0,86±0,17	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	0-2
Ca	294±59	393±79	5026±1005	1136±227	1606±321	4747±979	572±114	Жен 600-3000; Муж-300-1000
Cd	0,09±0,02	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	0,03-2 (ПДК 0,5)
Co	0,08±0,02	0,13±0,03	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	0,05-0,5
Cr	0,05±0,01	0,11±0,02	8,65±1,73	0,13±0,03	0,20±0,04	0,06±0,01	0,21±0,04	0,15-1,5
Cu	3,12±0,62	4,16±0,83	17,85±3,57	5,38±1,08	3,15±0,63	не обнаружено	7,71±1,54	Жен 11-17; Муж 10-25
Fe	15,50±3,10	11,31±2,26	55,2±11,04	10,98±2,19	27,63±5,53	156±31	17,74±3,55	10-25
Mg	32,97±6,59	30,85±6,17	442±88	231±46	250±50	638±128	153±31	Жен 60-200; Муж 30-70

Продолжение таблицы 23

Mn	0,56±0,11	0,56±0,11	6,95±1,39	1,16±0,23	3,26±0,65	23,98±4,79	0,91±0,18	Жен 1,01-28,9; Муж 0,32-1,13
Mo	0,71±0,14	0,37±0,07	0,45±0,09	0,020±0,004	0,09±0,02	0,12±0,02	0,17±0,03	0,02-2
Ni	0,03±0,01	0,010±0,002	1,06±0,21	0,06±0,01	3,23±0,65	0,56±0,11	0,28±0,06	0,1-2
P	248±50	246±49	83±16	100±20	81±16	118±24	125±25	Жен 140-170; Муж 135-200
Pb	1,53±0,31	0,18±0,04	0,51±0,10	1,08±0,22	0,19±0,04	0,16±0,03	0,05±0,01	2-4
Si	297±59	167±33	528±106	31,06±6,21	465±93	187±37	123±25	Жен 13-50; Муж 11- 150
Sn	0,08±0,02	0,11±0,02	0,14±0,03	0,11±0,02	0,26±0,05	0,46±0,09	0,14±0,03	0,05-2,5
Sr	не обнаружено	не обнаружено	1,14±0,29	10,86±2,17	10,20±2,04	16,13±3,22	6,70±1,34	0,5-20
Ti	2,54±0,51	2,27±0,45	9,42±1,88	3,40±0,68	3,51±0,71	3,02±0,60	2,78±0,56	0,5-2,0
V	0,020±0,004	0,020±0,004	не обнаружено	0,010±0,002	не обнаружено	не обнаружено	0,0030±0,0006	0,005-0,3
W	2,34±0,47	4,48±0,89	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	не обнаружено	0,2
Zn	225±45	210±42	129±26	128±26	141±28	1336±267	130±26	Жен 180-230; Муж 150-200
Zr	0,08±0,02	0,05±0,01	0,51±0,10	0,21±0,04	0,08±0,02	1,01±0,20	0,13±0,03	0-2,5

Сравнивая полученные экспериментальные данные с референтными значениями и анализируя их при помощи литературных источников [102;117–119], было выявлено следующее:

- у добровольцев всех возрастных групп в норме находятся такие элементы, как серебро, барий, висмут, кобальт, молибден, олово, стронций, цирконий;
- алюминий во всех образцах находится в норме, исключение составляет мужчина 60 лет. У него этот элемент находится в избытке. В этом случае основными проявлениями у него может быть нарушение функций ЦНС (ухудшение памяти, трудность в обучении, нервозность, депрессии, прогрессирующее старческое слабоумие, болезнь Альцгеймера, Паркинсона), заболевания опорно-двигательного аппарата, снижение активности ферментов, снижение эритроцитов и гемоглобина, обострение аутоиммунных заболеваний. Тормозит усвоение алюминия кальций, магний, железо, витамин В<sub>6</sub>, аскорбиновая кислота и серосодержащие аминокислоты;
- мышьяк наблюдается в избытке у мужчин в возрасте 68 и 90 лет, у остальных добровольцев он не обнаруживается;
- бор и бериллий у всех добровольцев находится в недостатке;
- Кальция у мужчин в возрасте 68 лет и у 90-летней женщины находится в норме, у мужчины 90 и женщины 52 лет он в недостатке, а также у мужчины 56 и 60 лет, женщины 55 лет кальций в избытке. Недостаток может привести к заболеваниям щитовидной железы, иммунной системы, почек (мочекаменная болезнь), зубов, сердечно-сосудистой и нервной системы (судороги в мышцах, боли в костях, изменение походки, нарушения процессов роста, деформирующий остеоартроз, деформация позвонков, переломы костей), может появиться общая слабость, повышенная утомляемость, аллергозы, снижение свертываемости крови. Избыток кальция приводит к подавлению возбудимости скелетных мышц и нервных волокон, уменьшение тонуса гладких мышц, гиперкальциемия, повышение кислотности желудочного сока, гастриту, язве желудка, отложениям в тканях и органах, брадикардии, стенокардии, подагре, туберкулезу, увеличение содержания солей кальция в моче, почечнокаменная болезнь, увеличение свертываемости крови, дисфункция щитовидной и околощитовидной желез. Избыток кальция приводит к дефициту цинка, магния и фосфора. Помимо этого, кальций препятствует накоплению свинца. Уровень кальция могут повышать железо, магний, марганец, фосфор, кремний. Ненасыщенные жирные кислоты, избыточное потребление сахара, белка, витамина D, избыточное поступление фосфора, свинца, цинка, магния, кобальта, железа, кадмия, свинца, алюминия, калия и натрия приводит к снижению кальция;

- кадмий у мужчины 90 лет в норме. У Остальных добровольцев он не обнаруживается. Однако, сера, селен, цинк, медь, кальций и пищевые волокна замедляют усвоение кадмия. Медь и цинк вытесняют кадмий;
- хром наблюдается в норме у женщины 52 и 90 лет, избыток проявляется у мужчины в 60 лет, недостаток – у мужчин возрастной категории 56, 68 и 90 лет и женщины в 55 лет. Избыток хрома может приводить к воспалительным заболеваниям с тенденцией к изъязвлению слизистых оболочек, дерматиту и экземам, астматическому бронхиту, бронхиальной астме, а также увеличивается риск онкологических заболеваний. При недостатке элемента может наблюдаться утомляемость, бессонница, беспокойство, головные боли, исхудание либо ожирение, нарушение репродуктивной функции, снижение чувствительности конечностей и их дрожь, толерантности к глюкозе, нарушение мышечной координации, повышение уровня холестерина триглицеридов в крови, а также риска развития атеросклероза, сахарного диабета, ишемической болезни сердца;
- медь находится в норме только у мужчины в 60 лет, у остальных добровольцев этот элемент в недостатке, что может приводить к ухудшению нервной системы, сердечно-сосудистой деятельности, костной и соединительной ткани, иммунной системе, возникает риск ишемической болезни сердца, бронхиальной астмы, рассеянного склероза, ускоренного старения, увеличиваются щитовидные железы. К дефициту меди могут приводить цинк, кадмий, марганец, железо и аскорбиновая кислота. Медь, в свою очередь, тормозит усвоение железа, кобальта, цинка, молибдена, витамина А. Оральные контрацептивы, гормональные средства усиленно выводят медь из организма;
- у мужчин в возрасте 56, 68, 90 лет, а также у женщины в возрасте 52 года, наблюдается нормальное содержание железа. У женщин в 55 и 90 лет и мужчины в возрасте 60 лет присутствует избыток железа, основными проявлениями которого могут быть отложения в тканях, головная боль, головокружение, потеря аппетита, уменьшения массы, утомляемость, пигментация кожи, тошнота, рвота, боли в желудке, запор, диарея, печеночная недостаточность, фиброз, снижение уровня сывороточного железа, повышается риск развития атеросклероза, болезней печени, сердца, диабета, инфекционных и опухолевых заболеваний. Усвоению железа способствуют кальций в оптимальном количестве, витамин С, В12, кислота желудочного сока, медь, однако фосфаты, входящие в состав яиц и молока, оксалаты, фитаты и танины, содержащиеся в черном чае, отрубях и кофе, препятствуют его усвоению. Витамин Е и цинк в высоких концентрациях снижают уровень железа;



- магний у мужчин в возрасте 68 и 90 лет, у женщины 52 года находится в пределах нормы, у остальных добровольцев он превышает нормальный уровень, что может приводить к вялости, сонливости, снижению работоспособности, диарее. Усвоение элемента ухудшается при избыточном поступлении свинца, кобальта, никеля, марганца, кадмия, кальция. Избыточное потребление фосфатов и жиров (до 70 г в день), алкоголя, кофе (более 2 чашек в день), антибиотиков для лечения опухолевых заболеваний препятствует усвоению магния. Увеличить содержание магния могут витамины В<sub>1</sub>, В<sub>6</sub>, С, D, кальций, фосфор (в оптимальном количестве), белок, эстрогены;
- никель у большинства добровольцев находится в норме. Исключение составляют мужчины в 56, 68, 90 лет, у которых наблюдается недостаток микроэлемента, и женщина 90 лет, у которой проявляется избыток. Избыточное содержание в организме никеля приводит к повышению возбудимости центральной нервной и вегетативной системы, к отекам легких и мозга, аллергическим реакциям кожи и слизистых оболочек верхних дыхательных путей (ринит и др.), тахикардии, анемии, а также к снижению иммунной защиты, повышенного риска развития новообразований в легких, почках, на коже. При его недостатке возникает контактный дерматит на металлы, поднимается уровень сахара в крови и снижается уровень гемоглобина; у детей замедляется рост. Антагонисты никеля -серосодержащие аминокислоты, сера, железо, цинк, кальций, витамин С;
- фосфор у большей части наших добровольцев находится в недостатке, основными проявлениями которого может быть утомляемость, снижение внимания, слабость, истощение, боли в мышцах, простудные заболевания, недостаточность белоксинтезирующей функции печени, кровоизлияния на коже и слизистых оболочках, остеопороз, иммунодефицитные состояния. Однако у мужчин в возрасте 90 и 68 лет наблюдаем избыток этого макрокомпонента, который может привести к отложениям в тканях малорастворимых фосфатов, почечнокаменной болезни, анемии, лейконемии, кровотечениям, кровоизлияниям. Усвоение фосфора усиливается под влиянием витаминов А, D, F, а также Са, К, Fe, Mn желудочный сок, ферментов и белков. Al, Fe, Mg. Наряду с чрезмерным употреблением сахара, витамин D способны снижать уровень фосфора;
- у всех пациентов наблюдается недостаток свинца, который приводит к уменьшению синтеза белка, гемоглобина и активности ферментов. Антагонистами свинца являются серосодержащие аминокислоты, витамины А, С, Е, В-комплекс, фолиевая кислота, кальций, магний, цинк, селен, хром, фосфор;

- кремний у всех добровольцев присутствует в избытке, исключение составляет мужчина 56 лет, у которого содержание кремния в норме. Избыток элемента может приводить к фиброзу легких, мочекаменной болезни, злокачественным опухолям плевры и брюшной полости. Избыток алюминия, потребление рафинированных пищевых продуктов, как правило, приводит к снижению кремния, а при рационе, богатом растительными волокнами – возрастает его содержание.
- Титан абсолютно у всех добровольцев находится в избытке, он может вызывать риск развития воспаления легких, легочных периферических лимфатических узлов, плевры.
- Ванадий в норме у мужчин в 56, 68 и 90 лет и женщина 55. Антагонистом хрома являются содержащиеся в пище белки.
- Вольфрам находится в избытке у мужчин в возрасте 68 и 90 лет, вызывающий нарушения функций легких.
- Цинк находится в недостатке практически у всех добровольцев, исключение составляют мужчины 68 и 90 лет, женщина 55 лет, у которых наблюдается повышенное содержание цинка. Недостаток цинка провоцирует заболевания кожи, ногтей, волос, костно-суставной ткани, иммунной системы, глаз, может возникнуть потеря памяти, сна, массы, раздражительность, гиперактивность, депрессия, потеря вкуса и аппетита, язвы во рту, диареи, длительные простудные заболевания, ускоренное старение, увеличивается содержание железа, магния, свинца, риск диабета, аллергии, опухолей и предрасположенность к алкоголизму, снижается уровня инсулина, сексуальной активности, выработка ферментов, синтез гормонов, происходит задержка роста, позднее половое созревание, преждевременные роды. Избыток же цинка приводит к снижению содержания железа, меди, кадмия, нарушениям функций иммунной системы, предстательной и поджелудочной железы, печени, кожи, волос, ногтей, болезненной чувствительности желудка. Медь, кадмий, свинец, особенно на фоне дефицита белка, повышенное поступление фитатов, фосфатов, кальция, оральных контрацептивов и алкоголя могут привести к дефициту цинка. Усвоению же препятствует медь, марганец, железо, кальций, кадмий, а также витамины А и В<sub>6</sub>.

Многочисленные исследования большого количества образцов показали, что элементный состав женских волос значительно отличается от элементного состава мужских волос по ряду элементов (рисунок 24). В образцах женских волос содержание магния и кальция больше, чем в мужских.

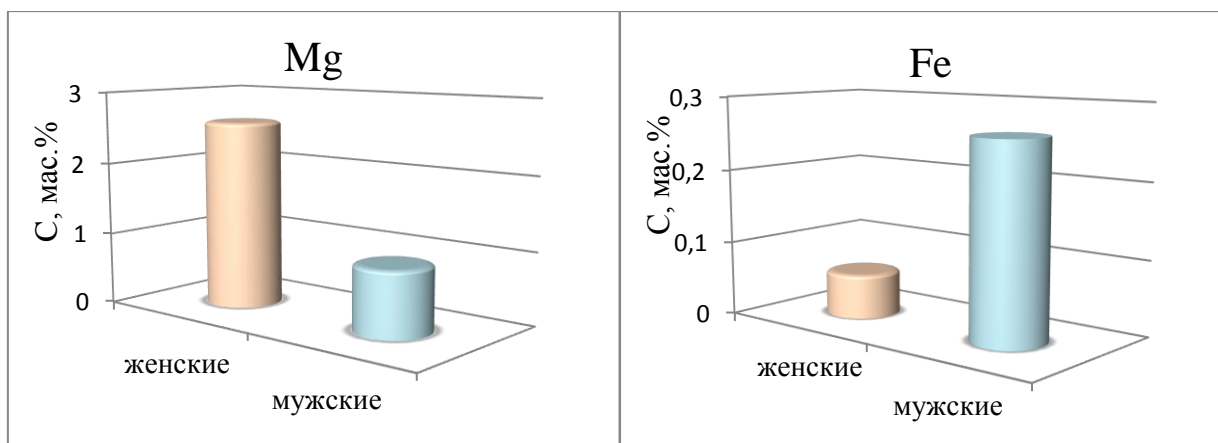


Рисунок 24 – Дифференциация образцов волос по их принадлежности к полу человека на основании содержания Mg и Fe

Возможно, это связано с тем, что эти элементы участвуют во всех ключевых процессах, происходящих в женском организме: в формировании стабильного гормонального фона, отвечают за нормальное течение беременности и родов. Содержание железа, напротив гораздо ниже, чем в пробах мужских волос, что также может быть связано с гинекологическими кровопотерями, обычно обильными и продолжительными менструальными циклами.

Нами было выявлено повышенное содержание кальция в волосах женщин репродуктивного возраста (27–30 лет) на момент отбора проб, находившихся в состоянии беременности или лактации (рисунок 25). Что объясняется большей потребностью организма в этом элементе в данный период жизни, суточная потребность в кальции беременных и кормящих в 2 раза выше потребности взрослого человека.



Рисунок 25 – Содержание кальция в волосах беременных, кормящих женщин относительно референтных значений (1–4 – образцы волос добровольцев) анализ проведен по МВИ (Свидетельство о метрологической аттестации № 08–47/380.01.00143-2013.2016).

В образцах мужских волос, по сравнению с женскими, отмечено повышенное содержание металлов-поллютантов (кадмий и свинец), что может быть результатом более частых производственных и бытовых контактов с ними, особенное питание, курение (экзогенный фактор), также и более низкого физиологического уровня элементов-антагонистов – кальция, магния и цинка.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что в женском организме содержится большее количество эссенциальных элементов (за исключением железа), чем в мужском, так как они необходимы для поддержания репродуктивной функции. Следовательно, по составу волос можно определить **половую принадлежность**.

Кроме того, нами было выявлено, что содержание в волосах человека таких элементов как кальций и фосфор, зависит не только друг от друга, за счет образования в желудочно-кишечном тракте не всасывающегося трехосновного фосфорнокислого кальция при повышенном содержании фосфора в пище [120], но и от возраста, обследуемого (рисунок 26). С возрастом содержание кальция в волосах уменьшается, а фосфора, наоборот, увеличивается. По содержанию этих элементов, а лучше по их отношению, можно установить **приблизительный возраст их обладателя**. И, наконец, элементный состав волос, как и отпечатки пальцев, очень индивидуален. **С его помощью можно идентифицировать человека**.

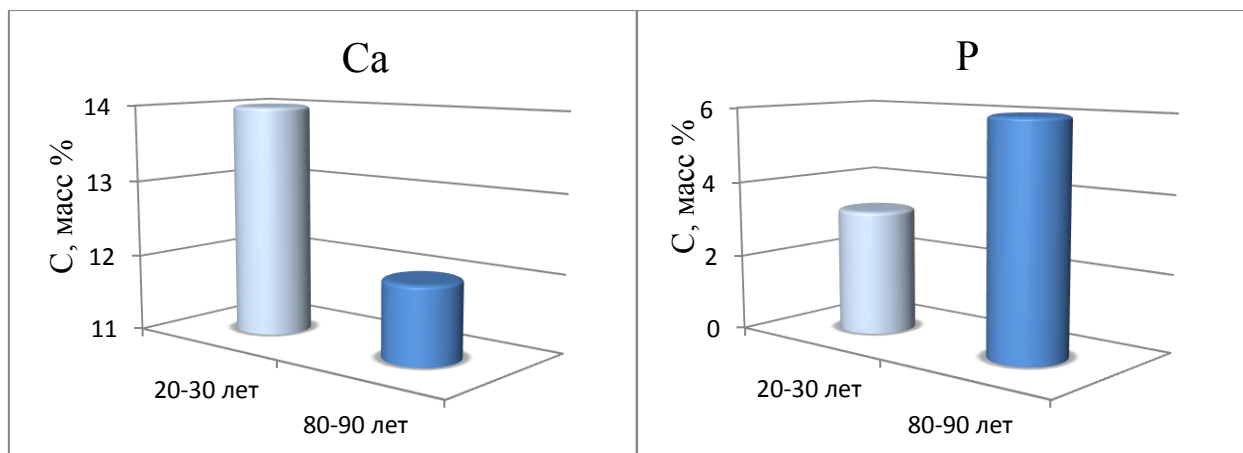


Рисунок 26 – Дифференциация образцов мужских волос по возрасту на основании содержания Ca и P МВИ (Свидетельство о метрологической аттестации № 08–47/380.01.00143-2013.2016).

По разработанной методике проведен анализ волос 500 пациентов с целью дополнительной диагностики заболеваний, оценки среды обитания и восстановления элементного баланса организма, обобщенные результаты представлены в таблица 24. Сравнивая содержание элементов в волосах человека с референтными значениями [102, 117–119] можно оценить степень элементного дисбаланса организма. Из таблицы 24 видно,

что у большего количества пациентов (примерно 80 %) в той или иной степени выражено отклонение от нормы (дисбаланс) микроэлементов. Что является следствием недостаточного поступления в организм микроэлементов с пищей, а также других причин, которые препятствуют их поступлению и усваиванию. Все это приводит к дисбалансу в организме современного человека жизненно необходимых химических элементов. Хронический дисбаланс микроэлементов ведет к серьезным изменениям функций организма (отклонению в обмене белков, жиров, углеводов, витаминов и выработке ферментов, ослаблению иммунитета, нарушению в эндокринной и нервной системах) и вызывает психоневрологические расстройства, онкологические заболевания, воспалительные поражения органов и тканей.

Таблица 24 – Содержание химических элементов в волосах мужчин и женщин Томской области. Анализ проведен по МУ (свидетельство о метрологической аттестации № 08–47/380.01.00143-2013.2016) Мс – медиана, q25 – нижний квартиль, q75 – верхний квартиль.

Эле- мент	20–30лет, Мс (q25–q75)		50–60 лет, Мс (q25–q75)		80–90 лет, Мс (q25–q75)	
	Муж	Жен	Муж	Жен	Муж	Жен
Ca	663 (289–1474)	4468 (3093–5251)	393 (312–3081)	3110 (572–4747)	300 (294–306)	996 (694–1606)
Mg	54 (32–76)	252 (131–326)	50 (30–337)	302 (153–639)	36 (33–38)	61 (59–252)
P	128 (89–311)	122 (100–176)	100 (84–221)	123 (118–125)	182 (117–248)	81 (39–97)
Si	44 (33–324)	240 (122–397)	167 (52–393)	123 (10–187)	185 (72–297)	459 (43–465)
Zn	173 (97–336)	268 (156–476)	129 (109–214)	767 (130–1337)	172 (118–225)	80 (43–141)
Al	8 (5–12)	15 (4.3–21)	4,5 (4,1–21)	6 (4,6–12)	3.1 (0.40–5.8)	6.2 (6.0–7.1)
Fe	13.4 (10–19)	10.6 (5.3–24)	11 (6,1–20)	17,7 (11–156)	7.3 (4.9–9.7)	14 (4.2–28)
Cu	6.2 (2.8–12)	7.7 (5.9–17)	4,7 (3,9–7,8)	7,7 (5,1–14)	4.3 (2.4–6.2)	3.0 (2.6–3.2)
Mn	1.03 (0.6–1.5)	4.6 (2.5–7.7)	0,64 (0,47–3)	4,3 (0,9–24)	0.45 (0.39–0.50)	3.3 (1.4–5.0)
As	0.21 (0.17–0.44)	0.1 (0.04–0.67)	0.6 (0.01–1.8)	Не обнаружено	0.11 (0.050–0.17)	Не обнаружено
Pb	0.52 (0.3–1.1)	0.5 (0.30–0.72)	0,37 (0,22–0,96)	0,12 (0,05–0,16)	0.68 (0.050–1.3)	0.19 (0.05–0.86)
Ti	2.24 (1.5–5.2)	1.9 (1.0–6.1)	2,3(1,5–3,2)	2,8 (0,14–3,0)	1.4 (0.90–1.9)	0.58 (0.43–3.5)
B	0.06 (0.025–0.1)	0.03 (0.004–0.01)	0,14 (0,02–0,26)	0,06 (0,01–0,29)	0.006 (0.002–0.01)	0.01 (0.008–0.02)
Bi	0.05 (0.002–0.090)	0.1 (0.01–0.20)	0.1 (0.03–0.86)	Не обнаружено	0.019 (0.010–0.027)	0.15 (0.05–0.58)

Cd	0.05 (0.01–0.10)	0.5 (0.1–1.0)	Не обнаружено	Не обнаружено	0.006 (0.002–0.009)	Не обнаружено
Co	0.05 (0.01–0.1)	0.5 (0.01–0.1)	0.01 (0.006–0.08)	Не обнаружено	0.013 (0.008–0.017)	Не обнаружено
Cr	0.17 (0.1–0.6)	0.19 (0.10–0.32)	0.11 (0.08–0.35)	0.059 (0.029–0.21)	0.085 (0.040–0.13)	0.01 (0.09–0.20)
Sn	0.19 (0.1–0.4)	0.77 (0.50–12)	0.11 (0.07–0.13)	0.46 (0.14–2.2)	0.031 (0.018–0,044)	0.12 (0.04–0.26)
Mo	0.01 (0.003–0.035)	0.30 (0.12–0.49)	0.05 (0.01–0.20)	0.14 (0.12–0.17)	0.82 (0.070–1.8)	Не обнаружено
Ni	0.11 (0.05–0.13)	0.19 (0.12–0.31)	0.05 (0.01–0.18)	0.56 (0.28–0.76)	0.067 (0.034–0.10)	0.32 (0.02–3.2)
Zr	0.08 (0.015–0,20)	0.61 (0.10–9.4)	0.05 (0.02–0.18)	0.32 (0.13–1.0)	0.015 (0.0004–0.030)	0.06 (0.02–0.08)
Ag	0.25 (0.1–0.70)	0.13 (0.06–20)	0.10 (0.08–0.22)	0.23 (0.02–0.73)	0.030 (0.010–0.050)	0.050.02–0.11)

Таким образом, микроэлементная коррекция является новым шагом в развитии современной медицины и криминалистики. Новая методика с применением дуговой атомно-эмиссионного спектрального анализа с многоканальным анализатором эмиссионных спектров позволит экспрессно с высокой точностью проводить определение химического состава волос, сравнить полученные данные с референтными значениями для пола, возраста и выявлять значимые отклонения. Это дает возможность оценить функциональное состояние отдельных органов, тканей, систем и всего организма в целом, сформировать наиболее оптимальную и строго индивидуальную схему коррекции отклонений и профилактических мероприятий.

## 5.2 Элементный анализ волос в неврологии и психиатрии

Разработанная нами методика находит применение для элементного анализа волос в неврологии и психиатрии. С ее помощью проведены исследования по выявлению изменения концентрации микроэлементов в волосах пациентов, перенесших ишемический инсульт с коморбидными депрессивными и когнитивными нарушениями. Для анализа были предоставлены образцы волос 85 пациентов с ЦВП (цереброваскулярная патология), сопровождающейся коморбидными тревожно-депрессивными (ТДР) и пост инсультными когнитивными нарушениями (ПИКН) разной степени тяжести, поступившими в порядке скорой медицинской помощи в клиники СибГМУ г. Томска. ЦВП занимает второе место в ряду основных причин смерти и является ведущей причиной инвалидизации населения, что определяет ее как одну из важнейших медицинских и социальных проблем. Отклонения в содержании химических элементов могут приводить к широкому спектру патологических состояний здоровья человека, в том числе росту числа сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Курение, злоупотребление алкоголем, эмоциональные перегрузки являются факторами риска ССЗ и способствуют как дефициту ряда важных макро- и микроэлементов (цинк, магний, калий), так и избытку некоторых из них (мышьяк, свинец). Под влиянием антропогенных и природных факторов внешней среды возможно возникновение экзогенных полидисмикроэлементозов, а при инсульте может иметь значение возникновение эндогенных дисмикроэлементозов. Содержание элементов в волосах отражает воздействие на человека повышенных концентраций различных химических элементов и уровень обеспечения организма человека необходимыми элементами в целом. Концентрация всех химических элементов в волосах многократно выше, чем в привычных для анализа жидкостях – крови и моче.



Микроэлементы являются основным звеном, участвующим в работе медиаторных систем головного мозга — ацетилхолинергической, серотонинергической, ГАМ-Кергической и дофаминергической. В рассмотрении механизма возникновения и протекания постинсультной депрессии и КН существенное значение уделяется нарушению обменных процессов в головном мозге, дисбалансу нейротрансмиттеров, элементного состава [121]. Известным фактором, ассоциированным с депрессией, стало изменение содержания в организме человека металлов – Cd, Pb, Hg, Mo и Ag [122].

Образцы, поступившие для анализа, были поделены на 2 группы: 1 – 24 пациента, 17 женщин и 7 мужчин (средний возраст – 64,8 года), перенесших ИИ с коморбидными ДР, 2 – 39 пациентов, 32 женщины и 7 мужчин (средний возраст – 62,5 года) с постинсультными КН. Исследования минерального статуса волос пациентов с ЦВП, сопровождающейся коморбидными ТДР и ПИКН, проводимые совместно с сотрудниками кафедры неврологии и нейрохирургии СибГМУ г. Томска (во главе с профессором Катаевой Н.Г) выявили, что у пациентов с ТДР нарастание тяжести депрессии сопровождается уменьшением содержания в волосах железа, магния, марганца, алюминия, бария и повышением концентрации молибдена. В таблице 1, показаны результаты определения концентрации некоторых эссенциальных и условно-токсических микроэлементов в пробах волос пациентов обеих групп в сравнении с референтными значениями [102; 117–119].

Таблица 25 – Данные центильных интервалов (от 25-го до 75-го) концентрации химических элементов (с, мкг/г) в волосах, рассчитанные для обеих групп

Элемент	1 группа		2 группа		Все пациенты (n=63)		Референтные значение
	n	С, мкг/г	n	С, мкг/г	n	С, мкг/г	
Al	24	0,36-10,0	39	0,4-18,30	63	0,36-18,30	1,0-18,0
Cd	19	0,02-0,25	7	0,02-0,18	26	0,02-0,25	0,02-0,10
Co	20	0,04-0,80	27	0,01-0,90	47	0,01-0,90	0,04-0,50
Cr	24	0,03-0,80	29	0-0,38	63	0-0,80	0,15-1,50
Cu	15	4,7-22,0	14	2,3-10,0	29	2,3-22,0	9,0-14,0
Fe	24	0,5-65,0	39	0,50-37,0	63	0,50-65,0	10,0-25,0

В исследуемых группах отмечено превышение верхней границы физиологической нормы Co и Cd по сравнению с референтными значениями. Во 2-й группе установлено значительное снижение содержания нижней границы физиологической нормы Cr и Cu.

Также в группе пациентов с ПИКН (постинсультными когнитивными нарушениями) обнаружено статистически значимое снижение в волосах микроэлементов магния, марганца, а также увеличение содержания алюминия (при правополушарном инсульте) и свинца. Отмечается

дефицит магния у больных с инсультом по сравнению с контролем. У пациентов с инсультом выявлено достоверное повышение концентрации в волосах условно токсичных элементов Cd и Pb, эссенциальных микроэлементов Cu, Fe, Mn и снижение концентрации Zn в сравнении с референтными значениями. Более выраженные изменения микроэлементного гомеостаза отмечены у пациентов с коморбидными инсульту депрессивными расстройствами. У перенесших инсульт пациентов с депрессивными и когнитивными расстройствами обнаружены нарушения обмена микроэлементов, принимающих участие в глубинных системах регуляции гомеостаза.

### 5.3 Взаимосвязи элементного состава волос и психологических особенностей человека

В настоящее время известно, что так называемый «биоэлементный портрет» человека и его здоровье взаимосвязаны. ВОЗ одним из важнейших параметров здоровья выделяет психологическое благополучие человека. В естественнонаучном подходе в психологии принято говорить о психологических характеристиках как составляющих общую конституцию человека. Вместе с тем известно, что изменение в минеральном обмене веществ ведет за собой изменения в функционировании нервной системы. Например, клиническим выражением дефицита магния у детей являются поведенческие расстройства, проявляющиеся гиперактивностью, импульсивностью, дефицитом внимания. А вот недостаток меди приводит к психоэмоциональному истощению.

Данная область научного знания привлекает внимание специалистов разных стран и разных специальностей. Также среди работ по данной тематике поднимается вопрос о возможности психокоррекционного вмешательства через приведение к нормативному состоянию биоэлементного статуса человека.

Проводя элементный анализа волос человека, можно установить биоэлементный статус обследуемого, и далее оценить его вклад в обеспечение психической саморегуляции личности.

Для выявления взаимосвязи элементного состава биологических субстратов организма и психологических особенностей мужчин и женщин, был проведен спектральный анализ образцов волос предоставленных сотрудниками кафедры общей и дифференциальной психологии СибГМУ г. Томск (эксперимент проводился под руководством доцента Хоч Н.С.).

Общие критерии отбора участников исследования в контрольную и экспериментальную группу были следующими:

- возраст от 16 лет;

- отсутствие в анамнезе исследования психических расстройств;
- наличие волосяного покрова на голове;
- отказ от применения, более двух недель, лечебных шампуней, средств против перхоти, муссов, лечебных бальзамов и гелей для волос;
- на момент исследования длительность проживания в Томской области не менее полутора лет.

Обязательным критерием отбора в контрольную группу было **отсутствие на момент исследования в анамнезе заболеваний несосудистой неврологической патологии**. В неё было включено 30 человек, восемь из испытуемых - мужского пола. В выборке представлены испытуемые в возрасте от 21 до 80 лет, средний возраст группы равен 36 годам.

Испытуемые для экспериментальной группы набирались в неврологической клинике СибГМУ г.Томск (под руководством заведующей кафедрой неврологии и нейрохирургии, д.м.н., профессора Катаевой Н.Г.) В экспериментальную выборку входили испытуемые, **имеющие на момент исследования заболевания несосудистой неврологической патологии, которые не подвергались медикаментозному лечению до процедуры забора волос**, а также проходящие по общим параметрам. В экспериментальную группу вошло 30 человек, из них восемь - мужчины. В выборке представлены испытуемые в возрасте от 16 до 64 лет, средний возраст примерно равен 36 годам.

При сравнении микроэлементного состава волос контрольной и экспериментальной групп были выявлены закономерности, представленные на рисунке 27.

- у испытуемых экспериментальной группы содержание алюминия, серебра, железа, кремния, титана и фосфора выше, чем у здоровых испытуемых контрольной группы;
- содержание магния в волосах ниже у экспериментальной группы;
- количество бора, бария, кальция, марганца, никеля и свинца в биоэлементном составе организма незначительно меньше у больных испытуемых;
- концентрация в элементном статусе меди, ванадия и цинка у больных с несосудистой неврологической патологией, относящихся к экспериментальной выборке исследования незначительно меньше данных показателей у контрольной группы;
- в тоже время различия по большинству биометрических показателей в выборках не значительны, относительно показателей нормы измеряемых величин.

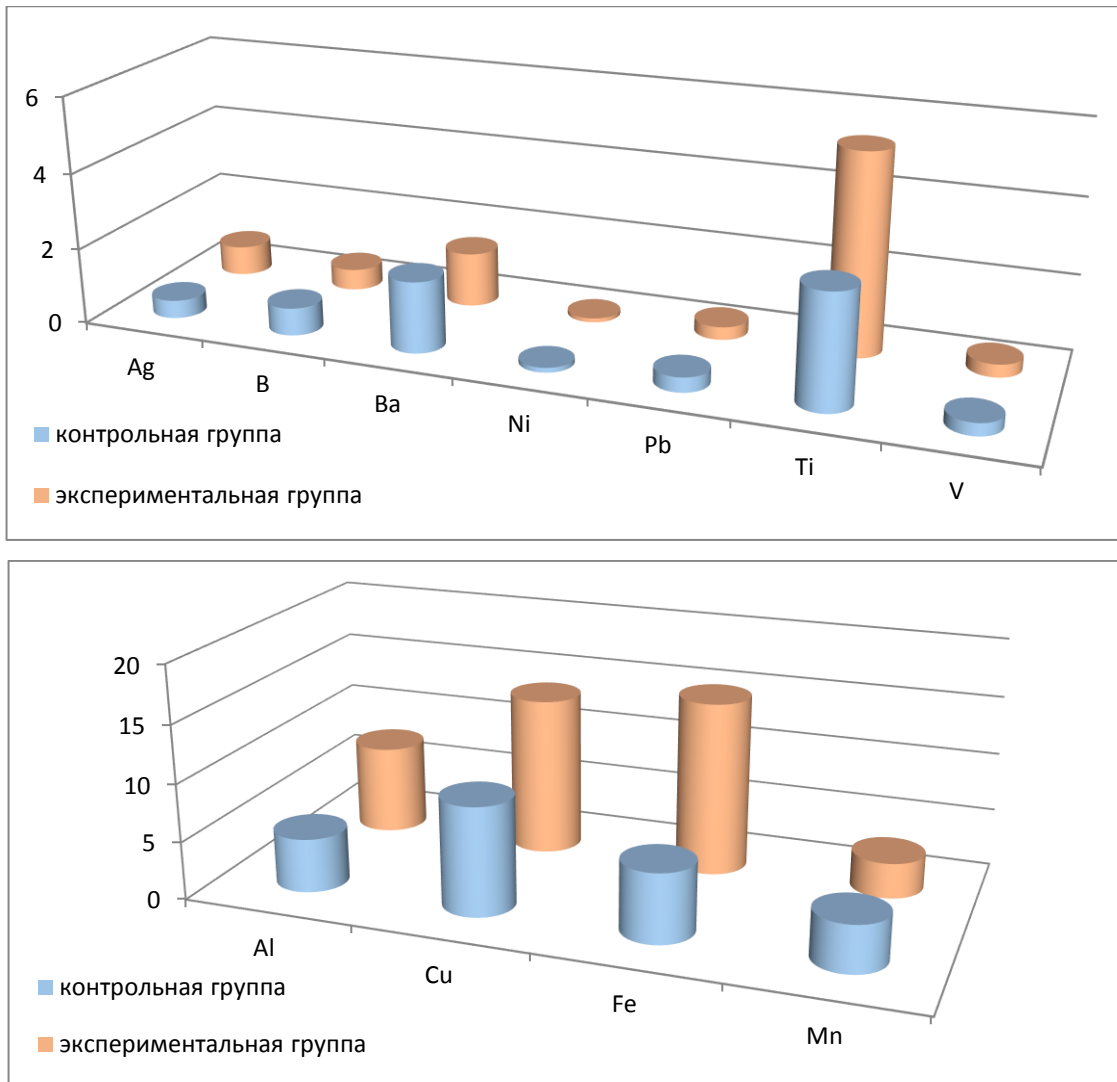


Рисунок 27 – Соотношение элементного состава волос контрольной и экспериментальной групп.

При помощи ряда методик [123-128], сотрудниками СибГМУ г.Томск (под руководством доцента Хоч Н.С.) были проведены исследования психологических особенностей **больных** с несосудистой неврологической патологией и их результаты соотнесены с данными элементного анализа волос, полученными по разработанной методике. Для установления наличия или отсутствия взаимосвязи между макро- и микроэлементным составом организма и психологическими особенностями **больных** был применен коэффициент корреляции рангов Спирмена.

По результатам исследования сделаны следующие выводы:

- доказана связь между концентрацией меди в составе организма и уровнем познавательных способностей, и наличием депрессивного состояния. Концентрация меди в элементном статусе имеет обратную корреляцию со шкалой увлечений морфологического теста жизненных ценностей. Возможно, что на фоне снижения познавательных способностей у больных с несосудистой неврологической патологией повышается ценность собственных увлечений, увеличивается их значимость в индивидуальном развитии.

- марганец влияет на мышечные рефлексы, функции памяти и нервную раздражительность, можно предположить, что корреляция с показателями по шкале саморазвитие морфологического теста жизненных ценностей, относится, в первую очередь, к ценности развития себя в физическом аспекте данного вопроса. Другими словами, занятия спортом, совершенствование собственного тела, изучение новых способов проведения досуга, что достаточно актуально учитывая специфику заболевания респондентов.
- отрицательна корреляция содержания меди в элементном портрете респондентов экспериментальной группы и показателей по шкалам физическое и ролевое функционирования, обусловленные физическим состоянием, опросника SF-36 и индекс общей активности опросника формально – динамических свойств личности может объясняться наличием депрессивной склонности в связи с особенностью данной выборки исследования, т.е. наличием заболевания несудистой неврологической патологии.
- концентрация ванадия в элементном статусе исследуемых отрицательно коррелирует с индексом психомоторной активности опросника формально динамических свойств личности В.М. Русалова, который, в свою очередь, складывается из показателей по шкалам эргичности, пластичности и скорости. Таким образом, исследование может являться обоснованием повышенной концентрации ванадия в элементном статусе больных хронической шизофренией.

#### 5.4 Элементный портрет человека как один из маркеров интеллектуальных способностей

Исследование современных суждений о интеллектуальном развитии человека дают возможность предположить, что элементный статус человека, определяемый по элементному анализу волос связан не только с психологическими и физическими особенностями человека, но и уровнем интеллектуальных способностей, IQ. Безусловно, умственное развитие человека в основном обусловлено генетическим фактором, то есть передается по наследству. Однако современные исследования говорят о том, что на уровень интеллекта так же оказывает влияние и среда в которой живет и растет человек. Многочисленные исследования показывают, что, если выяснять, отчего зависит IQ, нельзя не учитывать окружение и уровень жизни. Полученное человеком образование, круг общения, культурная среда и питание – это не только способ растить умных и здоровых детей, но и возможность получить в итоге высокоинтеллектуального

взрослого. Как правило, люди, не закончившие школу, отличаются от своих одноклассников, получивших диплом о среднем образовании, уровнем интеллекта не в лучшую сторону. В то же время выпускники ВУЗов умнее своих ровесников, закончивших только школу. Очень часто ведущим фактором в формировании интеллектуальных способностей называют память. Существует даже множество тренингов, направленных на ее развития, однако, ученые доказали, что это не тот фактор, который отвечает на вопрос, от чего зависит IQ. Гораздо больше на развитие интеллекта влияет повседневная деятельность. Люди, работающие в сферах, где постоянно требуется прилагать умственные усилия, реже страдают старичком слабоумием. Результаты тестов IQ и других, анализирующих умственные показатели, гораздо выше, чем у работников низкоквалифицированного труда. В немалой мере на развитие умственных способностей влияют культурные традиции место проживания. Если в постсоветских странах немалое внимание уделяется высшему образованию, то в Азии люди отдают предпочтение таким качествам, как умение договариваться, деловая хватка и способности к торговле. Это все не просто влияет на интеллектуальные способности населения в целом, но и заставляет индивидуумов развивать свою личность в нужных для достижения более высокого положения в обществе направлениях. Как не странно, самовнушение и личные убеждения влияют на интеллект не меньше, чем другие факторы. В Университете штата Мичиган провели занятное исследование. Одной группе студентов сообщили, что гении обладали превосходными генетическими данными, вторая категория учащихся, принимавших участие в эксперименте, считала, что успех зависит от личных усилий и упорного труда. Участники второй группы показывали более высокие результаты в учебе и лучше проходили тесты. Во многом на это повлияло, то, что они прикладывали больше усилий для саморазвития. Важным фактором как для развития человека в целом, так и для сохранения и преумножения умственных способностей является питание. Истощенный организм показывает худшие показатели в любых исследованиях. Мозг является одной из самых чутких и энергозатратных систем человеческого тела. Чтобы он хорошо развивался необходимо правильное питание с момента зачатия. Будущим матерям необходимо следить, чтобы в рационе было достаточно: белковых продуктов, витаминов, включающих широкий спектр микро и макроэлементов, йода и фолиевой кислоты. Недостаток этих компонентов может привести к слабоумию у новорожденных. Взрослым для нормальной работы мозга нужно есть пищу с высоким содержанием лецитина, йода, полиненасыщенных кислот, витаминов. Это не приведет к повышению интеллекта само по себе, но поможет сохранить умственные способности.

Все вышеизложенное дает основание полагать, что анализ волос может являться **индикатором умственных способностей**. В связи с этим нами был проведен ряд экспериментов на выявление зависимости элементного состава волос от IQ. В исследовании приняли участие 32

добровольца, средний возраст которых, составил 21 год. На первом этапе исследования был определен уровень интеллектуального развития с помощью теста Айзенка [129], состоящего из 40 вопросов, на выполнение задания отводилось 60 минут. Тест Айзенка предназначен для возрастной группы от 18 до 50 лет. Максимальное количество баллов, предусмотренное данным тестированием - 180. Тест IQ составлен таким образом, что его результаты дают нормальное распределение, со средним значением 100 баллов и разбросом, чтобы 50 % людей имели IQ между 90 и 110 и по 25 % — ниже 90 и выше 110. Значение IQ менее 70 часто квалифицируется как умственная отсталость. Единого общепризнанного теста для определения IQ, позволяющего определить, насколько эрудирован и умен человек, не существует, поэтому был выбран более доступный и известный тест Айзека.

На втором этапе исследования проведен элементный анализ волос участников эксперимента по разработанной нами методике. По результатам исследований для элементов, включенных в методику, наблюдается ряд закономерностей. Рассмотрим некоторые примеры. Для женщин, рисунок 28 (а, б, в, г), наблюдаются характерные зависимости ниспадающего характера для концентрации элементов: бериллия, молибдена, кадмия и олова в волосах в зависимости от увеличения IQ.

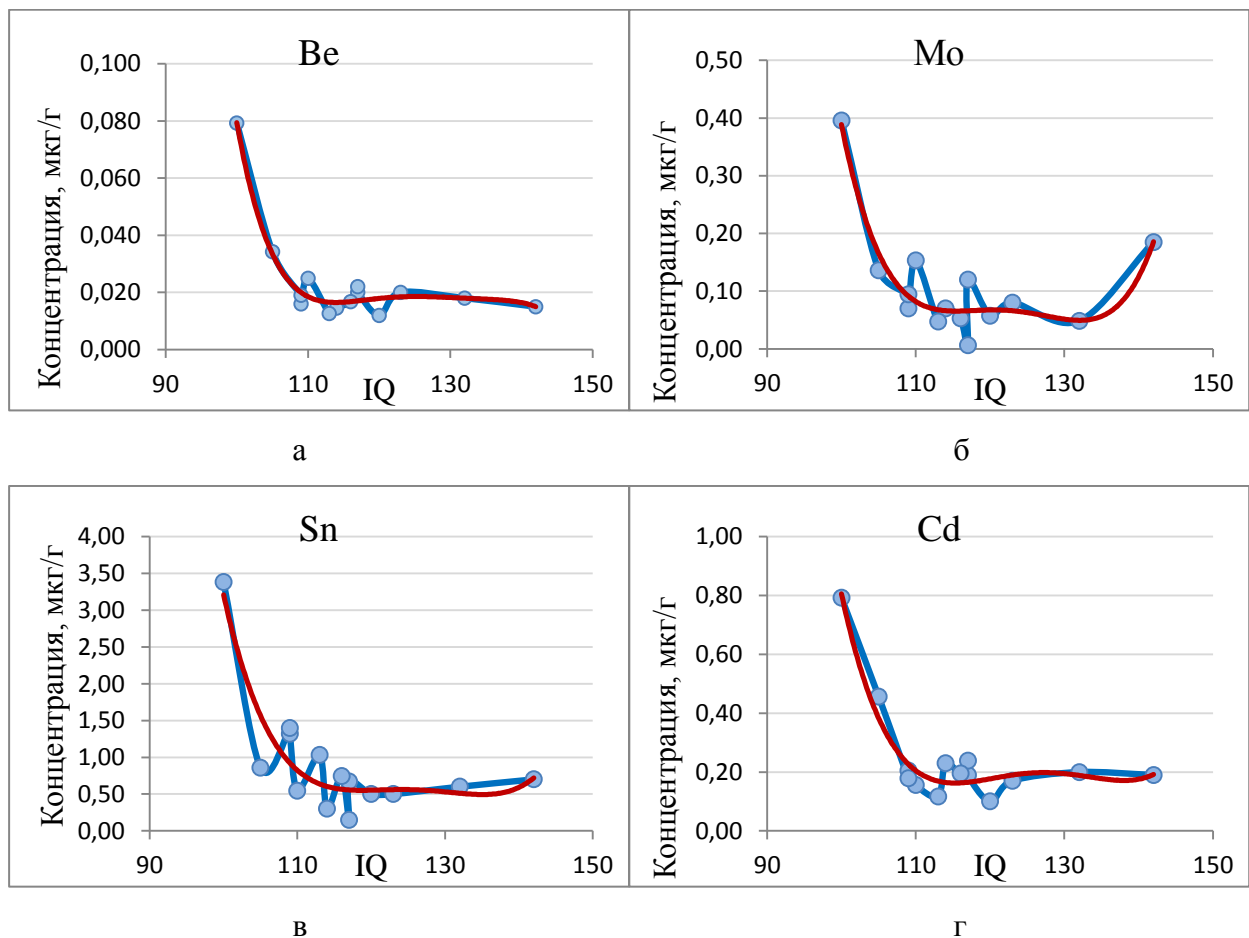


Рисунок 28 – Зависимость IQ от концентрации элемента, в волосах женщин: а – Be, б – Mo, в – Sn, г – Cd.

У мужчин выявлена закономерность, связанная со скачкообразными зависимостями в районе IQ 100 и 130 для W, Bi, Sn и Mn. Рисунок 29.

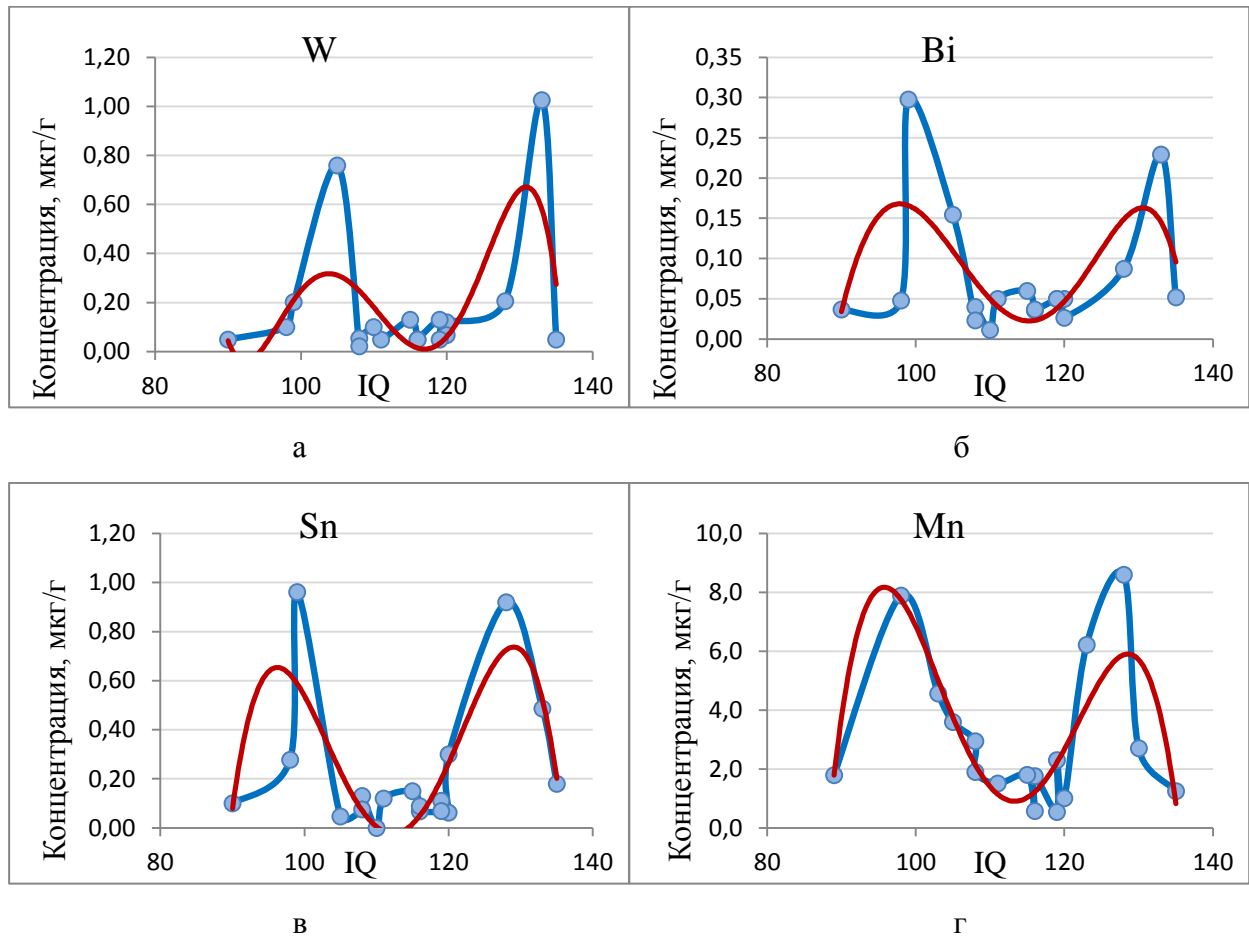


Рисунок 29 – Зависимость IQ от концентрации элемента в волосах мужчин: а – W, б – Bi, в – Sn, г – Mn.

В результате проведенных исследований построены закономерности более чем для 20 элементов позволяющие косвенно без проведения специальных исследований, попутно с установлением элементного статуса испытуемого оценить его интеллектуальную способность.

### 5.5 Оценка эффективности действия лекарственного препарата для преодоления экстремальных нагрузок

Катион лития в микроколичествах содержится во всех тканях человека, животных и многих растений, однако до настоящего времени его биологическая значимость ни в растениях, ни у животных не изучена. В то же время в медицине литий в виде органических и неорганических солей используется с 1949 г. для нормализации и стабилизации настроения [130,



131]. При назначении препаратов лития в медицинской практике одной из серьезных проблем является необходимость соблюдения узкого терапевтического коридора фармакологических доз, в котором действие лития эффективно и безопасно [132]. Во многих исследованиях показано, что низкие дозы органических солей лития обладают высокой биодоступностью [133]. Кроме того, установлено, что органические соли лития обладают меньшей токсичностью, нежели минеральные его соединения [134, 135]. Исходя из вышеизложенного, весьма рационален и перспективен поиск препаратов естественного комплекса макро- и микроэлементов в виде водных или спиртовых извлечений из растительного сырья, накапливающего литий. Особый интерес представляют растения семейства розоцветных, астровых и пасленовых, некоторые представители которых являются концентраторами лития [136].

При помощи разработанных ранее алгоритмов, п. 4.1 представляется возможным экспериментальное изучение накопления лития в надземной части репейника волосистого, относящегося к семейству розоцветных, и выявление специфической для лития хронобиологической активности полученного растительного экстракта.

Эксперименты выполнены (под руководством профессоров СибГМУ Краснова Е.А., Замощиной Т.А.), на 40 крысах-самцах линии Вистар массой 180-250 г (виварий НИИ фармакологии им. Е. Д. Гольдберга ТНЦ СОРАМН, Томск). За 3 недели до эксперимента животных произвольно разделили на 5 групп по 8 особей в каждой. Две из них экспериментальные, получающие экстракт репейника волосистого содержащего 10 мг/кг лития и три контрольные, получавшие в эквимолярных опытных группах количества, экстракт репейника очищенного от лития с помощью ионообменной хроматографии на катионите КУ-2, очищенную воду, на которой готовился экстракт, и последняя группа была интактная. Животных содержали в условиях комфортной температуры (22 °С) при естественном освещении и свободном доступе к корму и воде. В течение этого времени крысы адаптировались к зоосоциальной группе и к экспериментальным условиям. Опыты проводили в период зимнего солнцестояния (свет:темнота = 6:18 ч) при естественном освещении. С 6 по 7 сутки проводили экспериментальное тестирование. По окончании последнего тестирования животных выводили из эксперимента с помощью диоксида углерода, извлекали головной мозг и определяли содержание в нем (без мозжечка) лития методом пламенной фотометрии п. 4.1.3.

Исследования показали, что в водном экстракте надземной части репейника волосистого содержится до  $(8,5 \pm 0,4)$  мкг/г лития, что в сравнении с другими растениями [137] указывает на его высокую концентрацию в растении. В сухом водном экстракте, очищенном от лития с помощью ионообменной хроматографии, количество лития понижалось до  $(1,4 \pm 0,2)$  мкг/г.

У интактных животных в период зимнего солнцестояния наблюдался мощный внутренний и внешний десинхроноз и дневной тип активности, что соответствует литературным данным

[134, 138]. Во всех контрольных группах животных также наблюдали выраженный десинхроноз, по структуре аналогичный наблюдаемому у интактных крыс. В то же время в группах животных, получавших экстракт надземной части, двигательная активность приобретала ритмический характер.

Таким образом, наши эксперименты свидетельствуют о том, что водный экстракт надземной части репейника волосистого, содержащий повышенные концентрации лития, обладает ритмомоделирующим действием. Этот эффект проявлялся в виде синхронизации поведенческого и температурного ритмов животных с внешним датчиком времени, что ранее было отмечено для органических и неорганических солей лития [135].

Исследование содержания лития в мозге животных, получавших экстракт, позволило с большей долей вероятности полагать, что ритмомоделирующее действие экстракта репейника связано с литием. Было установлено, что, действительно, мозг животных, получавших водный экстракт репейника, содержит больше лития ( $0,76 \pm 0,063$ ) мкг/г, чем мозг тех крыс, которые его не получали ( $0,60 \pm 0,037$ ) мкг/г.

Таким образом, в исследовании установлено накопление лития в надземной части репейника волосистого и выявлена специфическая для лития хронобиологическая активность полученного растительного экстракта при введении последнего крысам. Под влиянием водного экстракта репейника суточные динамики поведенческой активности и ректальной температуры у животных приобретали ритмический характер и становились согласованными с внешним светотемновым циклом.

## Заключение

1. Впервые проведены исследования по установлению молекулярного, фазового и элементного состава зольного остатка волос с целью оптимизации дугового атомно-эмиссионного спектрального анализа. Определены матричные основные компоненты ( $\text{CaSO}_4$  и  $\text{CaCO}_3$ ), влияющие на формирование аналитического сигнала примесей и предложены способы их устранения.
2. Оптимизированы способы проведения спектрального анализа основных компонентов, находящихся в волосах, на уровне концентраций в диапазоне 10–200 мкг/г и более, и примесей на уровне концентраций 1-10 мкг/г и менее.
3. Разработана и метрологически аттестована методика МУ 08-47/380 «Методика (метод) измерений массовой концентрации элементов в пробах волос методом атомно-эмиссионного анализа с дуговым возбуждением спектра». Методика предназначена для использования в научно-исследовательской лаборатории мониторинга окружающей среды (НИЛ МОС) входящей в состав аккредитованного Томского регионального центра коллективного пользования Томского государственного университета.
4. Создана структурно-модельная схема аналитического сопровождения разработки лекарственных препаратов, обладающих ритмомоделирующим эффектом, заключающиеся в выборе вариантов пробоподготовок и соответствующих методов анализа. Подобраны оптимальные условия контроля лития и сопутствующих его элементов, оказывающих мешающее матричное влияние.
5. Разработаны соответствующие подходы к анализу растений, водных вытяжек, фракций биологически активных веществ (БАВ) и мозговой ткани подопытных крыс.
6. Представлен широкий спектр практического применения разработанных методик к анализу биологических объектов.

## Список литературы

1. Скальный, А. В. Биоэлементология – новый термин или новое научное направление? / А. В. Скальный, И. А. Рудаков // Вестник ОГУ. – №2. – 2005.– С. 4.
2. Полянская, И. С. Нано-, микро-, милли-, и макроэлементы в функциональных продуктах. Технологии и продукты здорового питания / И. С. Полянская // Матер. междунар. конференции. – М.: МГУПП, 2005. – С. 175.
3. Полянская, И. С. Нутрициологическая химия s-элементов: учебное пособие для вузов / И. С. Полянская. – Вологда: Молочное: ИЦ ВГМХА, 2011. – 139 с.
4. Оберлис, Д. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных / Д. Оберлис, Б. Харланд, А.Скальный. – СПб: Наука, 2008. – 544 с
5. Полянская, И. С. Нутрициологические, микробиологические, генетические и биохимические основы разработки и производства продуктов с пробиотиками: монография / И. С.Полянская [и др.]. – Вологда: Молочное: ИЦ ВГМХА, 2013. – 200 с.
6. Авцын, А. П. Микроэлементы человека: этиология, классификация, органопатология / А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риш [и др.]. – М.: Медицина, 1991. – 196 с.
7. Скальный, А. В. Биоэлементы в медицине / А. В. Скальный, И. А. Рудаков. – М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004 – 272 с.
8. Демидов, В. А. Оценка элементного статуса детей московской области при помощи многоэлементного анализа волос / В. А. Демидов, А. В. Скальный // Микроэлементы в медицине. – 2001. – Т. 2, № 3. – С. 46.
9. Скальный, А. В. Химические элементы в физиологии и экологии человека / А. В. Скальный. – М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004 – 216 с.
10. Braetter, P. Auswahl und Zugänglichkeit von Probenmaterial zur Bestimmung von Spurenelemente / P. Braetter, H.K. Biesalski, J. Koehrl, K. Schuemann (Hrsgb.) // Vitamine, Spurenelemente und Mineralstoffe. Praevention und Therapie mit Mikronaehrstoffen. – Stuttgart: Thieme. – 2002. – S. 682–687.
11. Скальная, М. Г. Макро- и микроэлементы в питании современного человека: эколого-физиологические и социальные аспекты / М. Г. Скальная, С. В. Нотова. – М.: РОСМЭМ, 2004. – 310 с.
12. Отто, М. Современные методы аналитической химии: в 2 т. / М. Отто, пер. с нем. под ред. А. В. Гармаша. – М.: Техносфера, 2004.
13. Устинова, А.А. Фармакогностическое исследование шрота травы адониса весеннего / А. А. Устинова, В. Д. Белоногова // Медицинский альманах. – 2011. – № 6. – С. 252.
14. ПНД Ф 1.31.2014.17779 Методика измерений массовой доли фторид-ионов в пробах волос потенциометрическим методом с применением ионоселективного электрода. – Ангарский филиал УРАМН ВСНЦ экологии человека СО РАМН-НИИ медицины труда и экологии человека – 2013. – 20 с.
15. ПНД Ф 1.31.2008.04295 Волосы. МВИ массовой концентрации кальция методом амперометрического титрования. – НИЛ микропримесей Томского политехнического университета. – 2006. – 15 с.
16. ПНД Ф 1.31.2008.04297 Биообъекты (волосы). Инверсионно-вольтамперометрический метод измерения массовых концентраций марганца, сурьмы и висмута. – НИЛ микропримесей Томского политехнического университета. – 2006. – 17 с.

17. ПНД Ф 1.31.2007.03911 Биообъекты (волосы, ткани). Инверсионно-вольтамперометрический метод измерения массовых концентраций хрома. – НИЛ микропримесей Томского политехнического университета. – 2007. – 15 с.
18. ПНД Ф 1.31.2004.01312 Методика выполнения измерений массовой концентрации общей ртути в волосах атомно-абсорбционным методом на анализаторе ртути РА-915+ с приставкой РП-91С. М-132-04. – СПб: ООО "Мониторинг". – 2004. – 13с.
19. ПНД Ф 1.31.2015.2105 Методика измерений массовой доли токсичных элементов в биологических образцах атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией и прямым вводом проб. – М: ООО «Интерлаб». – 2015 – 18 с.
20. Серебрянский, Е. П., Комплексный подход к элементному анализу волос с использованием методов ИСП-АЭС и ИСП-МС / Е. П. Серебрянский, А. В. Скальный, О. Ю. Чечеватова, [и др.] // Микроэлементы в медицине. – 2003. – Т. 4, № 1. – С.41.
21. ПНД Ф 1.31.2014.17064 Методика измерений массовых концентраций химических элементов в биосредах (кровь, моча) методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. – ФБУН "ФНЦ МПТ УРЗН". – 2013. – 22с.
22. Иванов, С.И., Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и массспектрометрией: Методические указания (МУК 4.1.1482-03, МУК 4.1.1483-03) / С.И. Иванов, Л.Г. Подунова, В.Б. Скачков, [и др.]. – М.: Федеральный Центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. – 56 с.
23. Подунова, Л.Г., Методика определения микроэлементов в диагностирующих биосубстратах атомной спектрометрией с индуктивно связанной аргоновой плазмой: Методические рекомендации, утверждены ФЦГСЭН 29.01.2003 / Л.Г. Подунова, В.Б. Скачков, А.В. Скальный, [и др.]. – М.: ФЦГСЭН МЗ РФ, 2003. – 17 с.
24. Taylor, A., Atomic spectrometry update. Clinical and biological materials, foods and beverages A. Taylor, Branch S., M. P. Day, [et al.] // J. Anal. Atom. Spectrom. – 2011. – Vol. 26, № 4. – P. 653.
25. 06.17-19Г.209 Определение элементов в шести растениях, растущих в монголии атомно-эмиссионной спектрометрией с индуктивно связанной плазмой // РЖ 19ГД. Аналитическая химия. Оборудование лабораторий. – 2006. – № 17.
26. Методика «Объекты биологического и растительного происхождения. Пищевые продукты и продовольственное сырье. Определение массовой доли элементов методом масс-спектрометрии в индуктивно-связанной плазме» № 01.06.07.08.5 ФР.1.31.2008.05237 01.5.6.7.05.579/08 05.09.2008]
27. Башилов, А. Атомно-эмиссионная спектроскопия микроволновой плазмы: новый метод элементного анализа / А. Башилов, О. Рогова // Аналитика. – 2013, № 5. – С. 48.
28. Башилов, А. В. Атомно-эмиссионная спектрометрия микроволновой плазмы: позиционирование, возможности, достоинства и ограничения / А. В. Башилов, О. Б. Рогова // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2014. – Т. 80, № 5. – С. 23.
29. Teodoro, M. S., Determination of metals in soil by microwave plasma-atomic emission spectrometry (MP-AES) using DTPA extraction / M. S. Teodoro, D. Schiavo, A. M. Ferreira // Agilent Application Note, 5991-2961EN, 2013.
30. Лузанова, И. С. Определение содержания лития в биообъектах (печень, почки) человека методом пламенной фотометрии / И. С. Лузанова, Т. В. Вознесенская, В. И. Меницкая, Е. В. Путинская // Судебно-медицинская экспертиза. – 2007. – № 5. – С. 38.
31. Хайрулина, А. Г. Определение натрия и калия в природных водах методом фотометрии пламени / А. Г. Хайрулина, С. В. // Известия Алтайского государственного университета. – 2012. – № 3(2). – С. 146.

32. Крупская, Т. К. Возможности рентгенофлуоресцентного анализа в исследовании микроэлементного состава пищевых продуктов и сырья / Т. К. Крупская, Л. П. Лосева, С. С. Ануфрик, А. Г. Мойсеёнок // Пищевая промышленность: наука и технологии. – 2013. – № 4. – С. 36.
33. [Лабусов, В. А.](#), Многоканальные анализаторы атомно-эмиссионных спектров. Современное состояние и аналитические возможности / В. А. [Лабусов](#), В. Г. [Гаранин](#), И. Р. [Шелпакова](#). // [Журн. аналит. химии](#). – 2012. – Т. 67, № 7. – С. 697.
34. Лабусов, В. А. Анализаторы МАЭС и их использование в качестве систем регистрации и обработки атомно-эмиссионных спектров / В. А. Лабусов, В. И. Попов, А. Н. Путьмаков [и др.] // Аналитика и контроль. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 110.
35. Полякова, Е. В. Определение кальция, магния, железа, меди, цинка и фосфора в сыворотке крови методом дуговой атомно-эмиссионной спектрометрии / Е. В. Полякова, О. В. Шуваева // [Журн. аналит. химии](#). – 2005. – Т. 60, № 10. – С. 1054.
36. Дробышев, А. И. Дуговой атомно-эмиссионный цифровой спектрографический анализ жидких биопроб с использованием МАЭС / А. И. Дробышев, С. С. Савинов // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2015. – Т. 81, № 1-II. – С. 142.
37. Parsons, P. J., Atomic spectrometry and trends in clinical laboratory medicine P. J. Parsons, F., Jr. Barbosa // Spectrochim. Acta. Part B. – 2007. – Vol. 62, №. 9. – P. 992.
38. Nham, T., Cost-effective analysis of major, minor and trace elements in foodstuffs using the 4100 MP-AES / T. Nham, C. Taylor // Agilent Application Note, 5990-8685EN, 2011
39. Скальный, А. В. Эколого-физиологические аспекты применения макро- и микроэлементов в восстановительной медицине / А. В. Скальный, А. Т. Быков – Оренбург: РИК ГОУ ОГУ, 2003.
40. Орлова, О. И. Применение биомониторинга для оценки характера и тяжести воздействия химического фактора. / О. И. Орлова, Е. И. [Савельева](#), А. С. [Радилов](#), [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. – 2010. – № 12. – С. 28.
41. Исмаилова, Ш. Т., Сравнительный анализ содержания токсичных металлов в волосах и других биосубстратах человека / Ш. Т. Исмаилова, Д. И. Махмудова, К. Ш. Салихова // Микроэлементы в медицине. – 2009. – Т. 10, № 1–2. – С. 88.
42. Скальный, А. В. Содержание химических элементов в волосах детского населения москвы: связь с заболеваемостью (1995–2004 гг.) / А. В. Скальный, М. Г. Скальная, В. А. Демидов [и др.] // Микроэлементы в медицине. – 2016. – Т. 17, № 1. – С. 10.
43. Скальный, А. В. Связь элементного статуса населения центрального федерального округа с заболеваемостью часть 2. Эссенциальные и условно эссенциальные химические элементы А. В. Скальный, А. Р. Грабеклис, В. А. Демидов [и др.] // Микроэлементы в медицине. – 2012. – Т. 13. № 2. – С. 1.
44. Черемушникова, И. И. Роль химических элементов в формировании поведения студентов / И. И. Черемушникова, С. В. Нотова, Н. О. Давыдова // Микроэлементы в медицине. – 2014. – Т. 15. № 2. – С. 3.
45. Буркова, Е. А. Перспектива применения фитобиотехнологии для получения биологически активных веществ / Буркова Е. А. Канарский А. В. Канарская З. А. // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – Т. 17, № 14. – С. 352.
46. Масляная, А. В. Сырье лекарственных растений - источник микроэлементов / А. В. Масляная // Здоровье и образование в XXI веке. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 112.
47. Скальный, А. В. Биоэлементы в медицине / А. В. Скальный, И. А. Рудаков. – М.: Оникс 21 век, Мир, 2004.
48. Кукушкин, Ю.Н. Химические элемнты в организме человека / Ю.Н. Кукушкин // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 5. – С. 54.

49. Фроули, Д. Аюрведическая терапия: 2-е изд / Д. Фроули [пер. с англ.]. – М.: Саттва, 2001. – 448 с.
50. Hong, G. Advances in research on chemical constituents and pharmacological activities of *Agrimonia pilosa* / G. Hong, Y.-H. Dai, P.-X. Liu, X. Shen, Y.-Y. Wei, G Li. // *Pharmaceutical Care and Research*. – 2008. – V. 8, №5. – P. 362.
51. *British Herbal Pharmacopoeia*, 1996. – 212 p.
52. He, C., Antioxidant activity of alcoholic extract of *Agrimonia pilosa* Ledeb / C. He, X. Ji, Y. Pan [et. al.] // *Medicinal Chemistry Research*. – 2009. – P. 1
53. Kwon, D.H. Inhibition of hepatitis B virus by an aqueous extract of *Agrimonia eupatoria* L / D. H. Kwon, H. Y. Kwon, H. J. Kim [et. al.] // *Phytotherapy Research*. – 2005. – V. 19, № 4. – P. 355.
54. Hua, C.L. Mechanism for the vascular relaxation induced by butanol extract of *Agrimonia pilosa* / C. L. Hua, J. K. Lee, K. H. Cho [et. al.] // *Korean Journal of Pharmacognosy*. – 2006. – V. 37, № 2. – P. 67.
55. Дудко, В. В. Гепатопротекторная активность экстракта травы репешка волосистого / В. В. Дудко, Н. Ю. Дегиль, Э. В. Сапрыкина [и др.] // *Фармация*. – 2009. – № 3. – С. 41.
56. Murayama, T. Agrimoniin, an antitumor tannin of *Agrimonia pilosa* Ledeb., induces interleukin-1 / T. Murayama, N. Kishi, R. Koshiura [et. al.] // *Anticancer Research*. – 1992. – V. 12, № 5. – P. 1471.
57. Bukovsky, M. Immunomodulative effects of ethanolic-aqueous extracts of *Herba agrimoniae*, *Flos chamomillae* and *Flos calendulae cum calyce* / M. Bukovsky, P. Blanarik // *Farmaceuticky Obzor*. – 1994. – V. 63, № 4. – P. 149.
58. Карташова, Г. С. Антибактериальная активность сухого экстракта из надземной части *Agrimonia pilosa* Ledeb / Г. С. Карташова, С. И. Керашева, Г. В. Романова // *Растительные ресурсы*. – 1998. – Т. 34, Вып. 3. – С. 100.
59. Хапкин, И.С. Перспективы использования препаратов из растений для регуляции агрегатного состояния крови / И. С. Хапкин // *Растительные ресурсы*. – 1994. – Т. 30, Вып. 1–2. – С. 86.
60. Дудко, В. В. Влияние экстракта репешка волосистого на концентрацию ионов калия, натрия, кальция в мозге крыс на фоне экспериментального гепатита / В. В. Дудко, Л. Н. Новицкая, Т. П. Новожеева [и др.] // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2006. – С. 89.
61. Карташова, Г. С. Содержание дубильных веществ в *Agrimonia pilosa* Ledeb / Г. С. Карташова, И. В. Гравель, Е. Г. Таран // *Растительные ресурсы*. – 1991. – Т. 27, Вып. 1. – С. 139.
62. Шухободский, Б. А. Обследование растений флоры северо-запада РСФСР на содержание флавоноидов, кумаринов, проазуленов и других физиологически активных соединений / Б. А. Шухободский, Л. П. Маркова, Л. В. Кузьмина // *Биология и химия растений – источников фенольных соединений и алкалоидов*. – 1972. – Вып. 16. – С. 117.
63. Wei, Y. Isolation of hyperoside and luteolin-glucoside from *agrimonia pilosa ledeb* using stepwise elution by high-speed countercurrent chromatography / Y. Wei, Y. Ito // *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*. – 2007. – V. 30, № 9–10. – P. 1465.
64. Xu, X. Separation and determination of flavonoids in *Agrimonia pilosa* Ledeb. by capillary electrophoresis with electrochemical detection / X. Xu, X. Qi, W. Wang, G. Chen // *Journal of Separation Science*. – 2005. – V. 28, № 7. – P. 647.
65. Li, Y.-W. Analysis of the volatile components of *Agrimonia pilosa* Ledeb by gas chromatography-mass spectrometry / Y.-W. Li, L.-F. Huang, C. Liang [et. al.] // *Journal of Central South University (Science and Technology)*. – 2007. – V. 38, № 3. – P. 502.
66. Макарова, Д. Л. Фитохимическое исследование растений флоры Сибири / Д. Л. Макарова, В. В. Величко, Н. Е. Ким [и др.] // *Фармация*. – 2008. – № 3. – С. 19.
67. Лавренев, В. К. 500 важнейших лекарственных растений / В. К. Лавренев, Г. В. Лавренова – М.: АСТ, 2003. – 510 с.

68. Macdonald, A. A feasibility and tolerability study of lithium in Alzheimer`s disease / A. Macdonald, K. Briggs, M. Poppe [et al.] // *Int. J. of geriatr. psychiatry.* – 2008. – № 23. – P. 704.
69. Ostacher, M. J. Patterns of response to aripiprazole, lithium, haloperidol, and placebo across factor scores of mania / M. J. Ostacher, T. Suppes [et al.] // *Int. J. of Bipolar Disorders.* – 2015. – V. 3, № 11. – P. 1.
70. Sakamoto, Y. Effects of 15-day Chronic Stress on Behavior and Neurological Changes in the Hippocampus of ICR Mice / Y. Sakamoto, T. Ogawa, M. Ogawa [et al.] // *Yakugaku Zasshi.* – 2015. – № 135(1). – P. 151.
71. Журавлев, Д. А. Модели артериальной гипертензии. Спонтанно-гипертензивные крысы / Д. А. Журавлев // *Артериальная гипертензия* – 2009. – Т. 15, № 6. – С. 721.
72. Дробышев, А. Н. Основы атомного спектрального анализа / А. Н. Дробышев. – СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2000.
73. Лабусов, В. А. Комплексы приборов для атомно-эмиссионного спектрального анализа на основе спектрометра «Гранд» / В. А. Лабусов // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов.* – 2008. – Т. 74, № 4. – С. 21.
74. Лабусов, В. А. Многоканальные оптические спектрометры для атомно-эмиссионного анализа: дис. ... д-ра. техн. наук: 05.11.07 / Лабусов Владимир Александрович. – Новосибирск, 2009. – 291 с.
75. Лабусов, В. А. Метрологическое обеспечение комплексов приборов для атомно-эмиссионного спектрального анализа с анализаторами МАЭС / В. А. Лабусов, С. А. Кайдалов, О. И. Щербакова [и др.] // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов.* – 2007. – Т. 73, № 5. – С. 40.
76. Гаранин, В. Г. Опыт оценки предела обнаружения элементов и сходимости результатов атомно-эмиссионного спектрального анализа с регистрацией спектров твердотельным детектором / В. Г. Гаранин, И. Р. Шелпакова, Т. А. Чанышева, Л. Н. Комиссарова // *Аналитика и контроль.* – 2004. – Т. 8, № 2. – С. 184.
77. Лабусов, В. А. Анализаторы МАЭС и их использование в качестве систем регистрации и обработки атомно-эмиссионных спектров / В. А. Лабусов, В. И. Попов, А.Н. Путьмаков [и др.] // *Аналитика и контроль.* – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 110.
78. Отмахов, В. И. Спектроскопические методы анализа: учебное пособие / В.И. Отмахов [и др.]. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2010.
79. Пупышев, А. А. Атомно- абсорбционный спектральный анализ / А. А. Пупышев. – М.: Техносфера, 2009. – 784 с.
80. Ганеев, А. А. Атомно-абсорбционный анализ: учебное пособие / А. А. Ганеев, С. Е. Шолупов, А. А. Пупышев [и др.]. – Санкт-Петербург: Лань, 2011. – 303 с.
81. Пупышев А.А. Атомно-абсорбционный спектральный анализ. М.: Техносфера, 784 с. 2009г
82. Лебедев, А. Т. Масс-спектрометрия для анализа объектов окружающей среды / А. Т. Лебедев. – М.: Техносфера, 2013. – 624с.
83. Лебедев, А. Т. Масс-спектрометрия в органической химии: учебное пособие для вузов по специализации 011004 - Органическая химия / А. Т. Лебедев. – М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2003. – 493 с.
84. Экман, Р. Масс-спектрометрия: аппаратура, толкование и приложения: базовый курс по основам масс-спектрометрии: от теоретических основ до тонкостей применения метода / Р. Экман, Е. Зильберинг, Э. Вестман-Бринкмальм, А. Край; под ред. А. Т. Лебедева [пер. с англ. П. С. Метальникова]. – М.: Техносфера, 2013. – 352 с.
85. Лаваньини, И. Количественные методы в масс-спектрометрии / И. Лаваньини, Ф.Маньо. – М.: Техносфера, 2008, – 567 с.



86. Пупышев, А. А. Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой / А. А. Пупышев, В. Т. Сриков. – Екатеринбург: УРО РАН, 2006. – 276 с.
87. Заикин, В. Г. Основы масс-спектрометрии органических соединений / В. Г. Заикин. – М.: 2001. – 400 с.
88. Суриков, В. Т. Входная ионная оптика квадрупольных масс-спектрометров с индуктивно связанной плазмой. часть 2. асимметричные системы с параллельным смещением ионов / В. Т. Суриков, А. А. Пупышев // Аналитика и контроль. – 2014. – Т. 18, № 3. – С. 216.
89. Коваленко, В. И. Идентификация веществ в смеси методом инфракрасной спектроскопии: методические указания / В. И. Коваленко, Т. Л. Диденко, А. В. Нестеров. – Казань, 2006. – 20 с.
90. Васильев, А. В. Инфракрасная спектроскопия органических и природных соединений: учебное пособие / А. В. Васильев, Е. В. Гриненко, А. О. Щукин, Т. Г. Федудина. – СПб.: СПбГЛТА, 2007. – 54 с.
91. Колесник, И. В. Инфракрасная спектроскопия / И. В. Колесник, Н. А. Саполетова. – М.: Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, 2011. – 88 с.
92. Тонков, М. В. Фурье-спектроскопия – максимум информации за минимум времени / М. В. Тонков // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т. 7, № 1. – С. 83.
93. Егоров, А. С. Инфракрасная Фурье-спектроскопия [Электронное учебно-методическое пособие]. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2012. – 40 с. – Режим доступа: [http://www.unn.ru/books/met\\_files/egorov\\_posobie.pdf](http://www.unn.ru/books/met_files/egorov_posobie.pdf).
94. Пиндюк, Т. Ф. Методы исследования строительных материалов: метод. указания к лабораторным работам / Т. Ф. Пиндюк, И. Л. Чулкова. – Омск: СибАДИ, 2011. – 60 с.
95. Кузнецова, С. А. Основы рентгенофазового анализа : методические указания / С. А. Кузнецова, В. А. Батырева. – Томск: Том. гос. ун-т, 2006. – 25 с.
96. Основы растровой электронной микроскопии, использование РЭМ в процессе электронной литографии: метод. указания к лабораторным работам по диагностике материалов [Электронный ресурс]. – Санкт-Петербург: ЦКП "Материаловедение и диагностика в передовых технологиях" при ФТИ им. А. Ф. Иоффе, 2013. – Режим доступа: <http://docplayer.ru/425419-Osnovy-rastrovoy-elektronnoy-mikroskopii-ispolzovanie-rem-v-processe-elektronnoy-litografii.html>.
97. Андерхальт, Р. Растровая электронная микроскопия для нанотехнологий. методы и применение / Р. Андерхальт, П. Анзалоне, П. Роберт Апкарриан [и др.]; под ред. Уэйли Жу и Жонг Лин Уанга [пер. с англ. С. А. Иванова и К. И. Домкина; под ред. Т. П. Каминской]. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2016. – 582 с.
98. Шаталова, Т. Б. Методы термического анализа / Т. Б. Шаталова, О. А. Шляхтин, Е. Веряева. – М.: Московский Государственный университет им. М.В.Ломоносова, 2011. – 72 с.
99. Вайтулевич, Е. А. Термический анализ органических полимерных материалов и композитов: учебное пособие / Е. А. Вайтулевич, О. В. Бабкина, В. А. Светличный. – Томск: Томский государственный университет, 2011.
100. Карпов, Ю. А. Методы пробоотбора и пробоподготовки / Ю. А. Карпов, А. П. Савостин. – М.: Изд-во БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – 250 с.
101. Скальный, А. В. Референтные значения концентрации химических элементов в волосах, полученные методом ИСП-АЭС (АНО центр биотической медицины) / А. В. Скальный // Микроэлементы в медицине. – 2003. – Т.4, Вып.1. – С. 55.
102. ГСО 8487-2003. Стандартные образцы состава графитового коллектора микропримесей. Комплект СОГ-37, УГТУ-УПИ. Екатеринбург, 2003.
103. Накамото, К. ИК спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений / Накамото К.; под ред. Пентина Ю.А. – М.: Мир, 1991. – 536 с.

104. Зажогин, А. Л. Однофононные спектры и структура нанокластеров сульфатов с одно- и двухвалентными катионами / А. Л. Зажогин, А. И. Комяк, Д. С. Умрейко // Вестник БГУ. Серия 1. – 2007. – № 1. – С. 17.
105. Афанасенко, Л. В. Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки / Л.В. Афанасенко. – М.: «Стандартинформ», 2012 – 63 с.
106. РМГ 61-2010
107. Литвинова, Т. Н. Биогенные элементы. Комплексные соединения / Т. Н. Литвинова, Н. К. Выскубова, Л. В. Ненашева. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2009. – 283 с.
108. Замощина, Т. А. Влияние анионного компонента и времени назначения солей лития на суточную динамику выведения лития с мочой у крыс / Т. А. Замощина, А. С. Саратиков, Е. В. Иванова [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2005. – Т. 39, № 6. – С. 3.
109. Curran, G. Lithium for bipolar disorders: a review of the recent literature / G. Curran, A. Ravindran // Expert Rev. Neurother. – 2014. – V. 14, № 9. – P. 1079.
110. Лавренова Г.В., Лавренов В. К. 500 важнейших лекарственных растений. – М.: АСТ. 2003. 510 с.;
111. Шретер, А. И. Природное сырье китайской медицины / А. И. Шретер, Б. Г. Валентинов, Э. М. Наумова. – М.: Теревинф, 2004. – Т.1. – 506 с.
112. Ханина М. Г., Ханина М. А. Фармакогностическое исследование репейничка волосистого / М. Г. Ханина, М. А. Ханина. // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов. – Пятигорск: Пятигорская государственная фармацевтическая академия. – 2007. – Вып. 63. – С. 119.
113. Лурье, Ю. Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод / Ю. Ю. Лурье. – М.: Химия, 1984 – 448 с.
114. Ханина, М. Г. Фармакогностическое исследование травы репейничка волосистого: *Agripmonia pilosa* Ledeb. : автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02 / Ханина Марина Георгиевна. – Самара, 2013. – 25 с.
115. Curran, G. Lithium for bipolar disorders: a review of the recent literature / G. Curran, A. Ravindran // Expert Rev. Neurother. – 2014. – V.14, № 9. – P. 1079.
116. Пухлякко, В. П. Международные тенденции развития экологической эпидемиологии: учебное пособие / В. П. Пухлякко. – М.: РУДН, 2008. – 303 с.
117. Афтанас, Л. И. Элементный статус населения России. Ч. 1. Общие вопросы и современные методические подходы к оценке элементного статуса индивидуума и популяции / Л. И. Афтанас, Е. Ю. Бонитенко, В. И. Вареник [и др.]; под ред. А. В. Скального, М. Ф. Киселева. – СПб: Медкнига «ЭЛБИ-СПб», 2010. – 416 с.
118. Афтанас, Л. И. Элементный статус населения России. Ч. 5. Элементный статус населения Сибирского и Дальневосточного федеральных округов / Л. И. Афтанас, Е. С. Березкина, Е. Ю. Бонитенко [и др.]; под ред. А. В. Скального, М. Ф. Киселева. – СПб.: Медкнига «ЭЛБИ-СПб», 2014. – 544 с.
119. Оберлис, Д. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных / Д. Оберлис, Б. Харланд, А. Скальный. – СПб.: Наука, 2008. – 544 с.
120. (М. А. Базарнова и соавт., 1986).,
121. Яхно, Н. Организация помощи пациентам с нарушением памяти и других когнитивных функций / Н. Н. Яхно, Н. Н. Коберская, И. В. Дамулин // Неврологический журнал. – 2006. – Т. 11, № 1. – С. 75.
122. Momčilović, B. Trace element metabolic imaging of the major unipolar clinical depression – silver in the hair and blood / B. Momčilović, J. Morović, J. J. Prejac, A. Celebić, A. R. Grabeklis, A. V. Skalny, N. Ivičić // Микроэлементы в медицине. – 2010. – Т. 7, № 4. – С. 43.

123. Русалов, В. М. Опросник формально – динамических свойств индивидуальности / В. М. Русалов. – М.: ИП РАН, 1997. – 50 с.
124. Сопов, В. Ф. Морфологический тест жизненных ценностей: руководство по применению / В. Ф. Сопов. – Самара: СамИКП, 2002. – 56 с.
125. Васильева И. А. Российская версия опросника kidney disease and quality of life short form (KDQOL-SF) – ценного диагностического инструмента для оценки качества жизни больных на диализе / И. А. Васильева // Нефрология. – 2007. – Том 11, № 1. – С. 64 – 70.
126. Старостина, Е. Г. Торонтская шкала алекситимии (20 пунктов): валидизация русскоязычной версии на выборке терапевтических больных / Е. Г. Старостина, Г. Тэйлор, М. Бэгби, А. Е. Бобров, Г. Паркер, – 2009.
127. Леонтьев, Д. Тест жизнестойкости / Д. Леонтьев, Е. Рассказова. – М.: Смысл, 2006.
128. Суходольский, Г. Математические метода в психологии / Г. Суходольский. – М.: Гуманитарный центр. – 2008. – 284 с.
129. Карелин А. А. Большая энциклопедия психологических тестов / А. А. Карелин. – М.: Эксмо, 2007.
130. Замощина, Т.А. Циркадианные ритмы концентрации эндогенного лития в мозге, крови и моче крыс в период зимнего и летнего солнцестояний / Замощина Т.А., Новицкая Л.Н., Иванова Е.В. // Вестник Оренбургского гос. ун-та. – 2005. – Вып. С.– С. 30–32.
131. Новицкая Л.Н. Суточная динамика концентрации лития в мозге, крови и моче при введении крысам лития оксибутирата / Л.Н. Новицкая, Т.А. Замощина, Е.В. Иванова, А.В. Матвеевко, М.В. Мелешко // Бюллетень СО РАМН. – 2002. – № 4. – С. 103–107.
132. Замощина Т. А., Особенности суточной динамики содержания натрия, калия, кальция и лития в крови, мозге и моче крыс в зависимости от сезона года и режима освещения / Т.А. Замощина, Л. Н. Новицкая, Е. В. Иванова // Вестник Оренбургского гос. университета. Приложение: Биоэлементология. – 2006. – 62(12). – С.104 – 107.
133. Ашофф Ю., Биологические ритмы, Т. 1-2, Мир, Москва (1984), с. 54-69.
134. Geoffroy P., Lithium and Circadian Rhythms / В. Etain, S. Sportiche, et al. // Int. J. Bipolar Disord., №2 – (2–5) – 2014.
135. Lovkova M.Ya. Lithium-concentrating plant species and their pharmaceutical usage / Sokolova S.M., Buzuk G.N. Doklady // Biological Sciences. 2007. – Т. 412. – № 1. – С. 64–66.
136. Гоголева И. В., Внимание литий! / Гоголева И.В., О. А. Громова // Практика педиатра. – М.: 2007.
137. Dibner C., The Mammalian Circadian Timing System: Organization and Coordination of Central and Peripheral Clocks / C. Dibner, U. Schibler, U. Albrecht // Annu Rev Physiol. 2010. – 72, – P. 517-549.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1



Россия, 634050, г. Томск, проспект Ленина, дом 30

<http://tpu.ru>  
e-mail: metrolog@tpu.ru

**СВИДЕТЕЛЬСТВО  
ОБ АТТЕСТАЦИИ МЕТОДИКИ (МЕТОДА) ИЗМЕРЕНИЙ  
№ 08–47/380.01.00143-2013.2016**

Методика (метод) измерений массовой концентрации элементов в пробах волос методом атомно-эмиссионного анализа с дуговым возбуждением спектра,

**разработанная** научно-исследовательской лабораторией мониторинга окружающей среды Томского регионального центра коллективного пользования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (634050, г. Томск, пр. Ленина, 36)

**и регламентированная** в МУ 08–47/380 Методика (метод) измерений массовой концентрации элементов в пробах волос методом атомно-эмиссионного анализа с дуговым возбуждением спектра, 2016 г, 21 с.

**аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563-2009.**

Аттестация осуществлена по результатам теоретических и экспериментальных исследований методики измерений.

В результате аттестации методики измерений установлено, что методика измерений соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям.

Показатели качества методики приведены в Приложении 1.



Проректор по научной работе и инновациям  А.Н. Дьяченко

Директор Центра метрологии  М.Н. Селехова

Дата выдачи: 02.02.2016 г.

Рекомендуемый срок пересмотра  
методики (метода) измерений 02.02.2021 г.