

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Национальный исследовательский Томский государственный университет»

На правах рукописи

Рабцевич Евгения Сергеевна

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ ЭЛЕМЕНТНОГО
СОСТАВА БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ
СПЕКТРАЛЬНЫМИ МЕТОДАМИ

02.00.02 - Аналитическая химия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
доктор технических наук, профессор
Владимир Ильич Отмахов

Томск-2021

Оглавление

Введение.....	5
Глава 1 Объекты исследования, биологическая роль макро- и микроэлементов в них. Выбор аналитических методов для проведения элементного количественного химического анализа исследуемых объектов	11
1.1 Объекты исследования. Влияние элементного состава на свойства и характеристики анализируемых объектов.....	11
1.1.1 Лекарственное растительное сырье	11
1.1.2 Органы подопытных животных.....	13
1.1.3 Клещи	14
1.2 Выбор спектральных методов для проведения элементного количественного химического анализа исследуемых объектов	16
1.2.1 Дуговая атомно-эмиссионная спектрометрия с многоканальным анализатором эмиссионных спектров (ДАЭС с МАЭС)	18
1.2.2 Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) низкого разрешения (Agilent 7500cx)	19
Вывод к главе 1	24
Глава 2 Метрологическое моделирование для обоснования выбора спектральных методов для количественного химического анализа исследуемых объектов	25
2.1 Алгоритмы оценивания приемлемости выбора аналитических методов ...	25
2.2 Выбор стандартных образцов для предварительной оценки показателей качества аналитических методов	27
2.3 Предварительное оценивание показателей качества метода ДАЭС с МАЭС.....	27
2.4 Предварительное оценивание показателей качества метода ИСП-МС	

низкого разрешения	30
Вывод к главе 2.....	33
Глава 3 Оптимизация условий проведения спектрального анализа методом ДАЭС с МАЭС.....	35
3.1 Лекарственное растительное сырье	35
3.1.1 Пробоподготовка образцов лекарственного растительного сырья	35
3.1.2 Определение молекулярного и фазового состава зольного остатка лекарственного растительного сырья.....	39
3.1.3 Исследование матричного влияния при проведении анализа методом ДАЭС с МАЭС зольного остатка лекарственного растительного сырья	43
3.1.4 Метрологическая аттестация методики анализа лекарственного растительного сырья методом ДАЭС с МАЭС	47
3.2 Органы подопытных животных	50
3.2.1 Пробоподготовка внутренних органов подопытных животных	50
3.2.2 Определение молекулярного и фазового состава зольного остатка внутренних органов подопытных животных.....	52
3.2.3 Метрологическая аттестация методики анализа внутренних органов подопытных животных методом ДАЭС с МАЭС	60
3.3 Исследование матричного влияния, пробоподготовка образцов разработка и предварительная аттестация методики анализа методом ДАЭС с МАЭС отдельных особей клещей.....	62
Вывод к главе 3.....	68
Глава 4 Применение метода ИСП-МС для определения примесей и микропримесей в исследуемых объектах	70
4.1 Неспектральное матричное влияние.....	70
4.2 Спектральное матричное влиянии	71

4.3 Оптимизация условий проведения анализа. Оценка эффективности работы спектральной плазмы.....	72
4.4 Обобщенный алгоритм пробоподготовки исследуемых объектов.....	76
4.5 Метрологическая аттестация методики анализа объектов растительного происхождения методом ИСП-МС.....	77
4.6 Разработка методики анализа иксодовых клещей методом ИСП-МС.....	79
4.6.1 Оценка чувствительности метода ИСП-МС при анализе одной особи.....	79
4.6.2 Оценка показателей качества измерений ИСП-МС	80
Вывод к главе 4.....	83
Глава 5 Практические аспекты проведенных исследований	85
5.1 Апробация методики анализа лекарственного растительного сырья	85
5.2 Апробация методики анализа органов подопытных животных	88
5.3 Апробация методики анализа отдельных особей клещей	89
Вывод к главе 5.....	95
Заключение	96
Условные обозначения и сокращения.....	97
Список литературы	98

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время, несмотря на большие успехи в области синтеза новых биологически активных веществ, расширяется ассортимент и перспективы использования лекарственных средств растительного происхождения. Растения являются хорошими природными источниками жизненно необходимых химических элементов. Минеральный состав лекарственного растительного сырья позволяет определить его терапевтическую значимость, оценить район произрастания растительного сырья для дальнейшего использования в целях разработки новых лекарственных препаратов. Кроме того, растения являются индикаторами, которые указывают на степень загрязненности ареала их произрастания. Поэтому актуальной является задача определения содержания микроэлементов, тяжелых и токсичных элементов в растительных образцах.

Также в работе представлены исследования по определению элементного состава органов подопытных крыс, что является перспективным направлением в биологии, физиологии и ряде других дисциплин. Геном подопытных крыс часто сравнивают с геномом человека. По результатам мультиэлементного анализа можно судить не только о функциональных резервах организма, но и о его элементном статусе, который характеризует достоверное отражение биохимических процессов, происходящих в организме человека и животных. Разработка новых лекарственных препаратов не может обойтись без качественной и количественной оценки фармакологического действия на живой организм. Первичные исследования такого рода могут быть проведены только на лабораторных животных.

Следующим объектом исследования в работе были клещи. В последние годы среди ученых получило широкое развитие новое направление исследований – прогнозирование распространения природно – очаговых инфекций в современной эпидемиологической обстановке в мире. В настоящее время существует большое количество причин для расширения ареала иксодовых клещей: глобальное потепление климата, загрязнение окружающей среды

тяжелыми и токсичными металлами (ТМ) (Cd, Zn, Cu, Pb, Ni, Mn Fe, Co и др.) и т.д. Все это приводит к ухудшению состояния экосистем в результате загрязнения атмосферного воздуха, воды и почвы. Учеными исследовано влияние загрязнения почвы токсичными металлами на биологию и морфологию клещей, и установлено снижение иммунитета кровососущих, и, как следствие, повышение восприимчивости клещей к патогенным агентам.

Для выбранных аналитических объектов на рынке аналитических услуг либо нет, либо имеется ограниченное количество методов и методик для элементного анализа. Наиболее близкая к нашим объектам методика «Определение элементного состава образцов растительного происхождения (травы, листья) атомно-эмиссионным и масс-спектральными методами анализа» (НСАМ № 512-МС Отраслевая методика III категории точности) [1] обладает рядом недостатков, в частности, на наш взгляд, не корректно представлены показатели качества измерений. По данной методике делается вывод о том, что главное, от чего зависят показатели качества измерений — это диапазон определяемых содержаний, при этом не учитывается природа самого определяемого элемента и возможности, связанные со спектральными и не спектральными помехами и интерференциями.

Работа выполнена на кафедре аналитической химии в лаборатории мониторинга окружающей среды (ЛМОС) и в испытательной лаборатории «Аналитический центр геохимии и природных систем» (ИЛ АЦГПС), аккредитованного испытательного центра «Томский региональный центр коллективного пользования» (ТРЦКП) (аттестат аккредитации RA.RU.21BO08 от 16.11.2017) Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет». Исследования проводились 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» (2014-2015 гг., руководитель О.В. Бабкина), конкурса исследовательских проектов лабораторий в рамках программы «Научный фонд им. Д.И. Менделеева Томского государственного университета», «Биоценотические связи в структуре биоразнообразия естественной и урбанизированной среды» (2019 г., руководитель: Н.С. Москвитина) и Государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ № 0721-2020-0041 «Геохимические параметры эволюции магматизма и рудогенезиса Центрально-Азиатского складчатого пояса» (2020-2024 гг., руководитель: П.А. Тишин).

Цель работы. Разработка аналитических подходов к элементному анализу биологических объектов растительного и животного происхождения с использованием методов ДАЭС с МАЭС, ИСП-МС и ПФ.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- провести метрологическое моделирование возможности получения достоверных результатов количественного химического анализа исследуемых объектов методами ДАЭС с МАЭС (спектрометр «Гранд») и ИСП-МС (Agilent 7500сх) низкого разрешения в широком диапазоне концентраций;
- определить факторы, оказывающие негативное влияние на получение достоверных результатов методами ДАЭС с МАЭС и ИСП-МС, и найти способы повышения точности анализа;
- с помощью физико-химических методов изучить элементный, молекулярный и фазовый состав зольных остатков исследуемых объектов;
- исследовать возможности учета и устранения матричных влияний при атомно-эмиссионном спектральном анализе исследуемых объектов;
- исследовать возможности учета и устранения неспектральных помех и спектральных интерференций для метода ИСП-МС низкого разрешения;
- разработать подходы, позволяющие проводить анализы исследуемых объектов с применением комбинации методов ИСП-МС и ДАЭС с МАЭС;

- разработать и провести предварительную аттестацию методик определения элементного состава исследуемых объектов для методов ИСП-МС и ДАЭС с МАЭС;

- провести практическую апробацию разработанных методик.

Научная новизна выполненной работы состоит в следующем:

1. Впервые предложена и обоснована метрологическая модель для оценки возможности применения спектральных методов (ДАЭС с МАЭС, ИСП-МС, ПФ) в элементном анализе биологических объектов и лекарственного растительного сырья.

2. Изучены закономерности матричных влияний при атомно-эмиссионном спектральном анализе лекарственного растительного сырья, зольных остатков клещей и подопытных животных на основе проведения их элементного, молекулярного и фазового состава.

3. Предложены эффективные способы устранения матричных влияний путем введения специально подобранных добавок – носителей, которые способны стабилизировать горение плазмы дугового разряда и регулировать процесс поступления компонентов пробы в зону разряда, тем самым значительно повышая точность и правильность проведения анализа.

4. Предложена комбинация спектральных методов, позволяющая проводить полный количественный химический анализ зольных остатков лекарственного растительного сырья, клещей и подопытных животных на разных концентрационных уровнях с улучшенными показателями качества измерений в сравнении с существующими методиками.

Практическая значимость работы. Разработаны и предварительно метрологически аттестованы методики анализа исследуемых объектов методами ДАЭС с МАЭС, ИСП-МС и ПФ. Разработанные методики прошли апробацию в Сибирском государственном медицинском университете (СибГМУ), Биологическом институте Томского государственного университета и Клинике НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д.Гольдберга. Результаты, полученные на основе разработанных методик использованы для

разработки лекарственных препаратов ноотропного, противоопухолевого и ритмомодулирующего действия из лекарственного сырья флоры Сибири.

Достоверность научных положений обусловлена представительным объемом проведенных экспериментов, проведенных на метрологически обеспеченном оборудовании в аккредитованных лабораториях с использованием современных физико-химических методов исследований, метрологической обработкой результатов и сличительными испытаниями.

Защищаемые положения:

1. Метрологические подходы выбора аналитических методов для определения примесей и микропримесей в исследуемых объектах.

2. Научно обоснованный метод оценки и устранения источников погрешности при оптимизации пробоподготовки и условий проведения атомно-эмиссионного спектрального анализа.

3. Методики атомно-эмиссионного спектрального анализа и метода ИСП-МС для определения примесей и микропримесей в исследуемых объектах.

4. Результаты экспериментальных исследований качественного и количественного химического состава лекарственного растительного сырья, органов подопытных животных и клещей.

Личный вклад автора. Автором самостоятельно выполнен анализ литературных данных по теме диссертации, проведены экспериментальные исследования по определению элементного состава анализируемых образцов, разработке аналитических подходов к выявлению и способам учета матричных влияний; проведена предварительная метрологическая аттестация разработанных методик и их апробация.

Апробация работы. Основные положения и результаты работы представлены на международных, всероссийских форумах, симпозиумах и конференциях: XIV международный симпозиум «Применение анализаторов МАЭС в промышленности» (Новосибирск, 2014, 2018), Международная научная конференция «Полифункциональные химические материалы и технологии» (Томск, 2015), XXI международная научная конференция студентов, аспирантов и

молодых ученых «Современная техника и технологии» (Томск, 2015), X Всероссийская научная конференция с международным участием «Аналитика Сибири и дальнего востока» (Барнаул, 2016), XX Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Наука и образование» (Томск, 2016), AIP Conference Proceedings XIII International Conference of Students and Young Scientists «Prospects of Fundamental Sciences Development» (TomsK, 2016, 2018), XIV Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, 2017, 2018), XVIII Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых имени профессора Л.П.Кулёва «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2017), Сборник научных трудов пятой научно-практической конференции «Молодые учёные и фармация XXI века» (Москва, 2017).

Публикации. Основное содержание диссертации опубликовано в 21 научных работах, из них 3 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий (из них 2 статьи в российских научных журналах, входящих в Scopus); 2 статьи в сборниках материалов конференций, представленных в изданиях, входящих в Web of Science и/или Scopus; 6 статей в прочих научных журналах; 10 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских с международным участием научных и научно-практических конференциях и симпозиумах.

Структура и объём диссертации. Результаты диссертационной работы изложены на 109 страницах машинописного текста, включающих в себя введение, 5 глав, список цитируемой литературы, состоящий из 108 источников. Работа содержит 29 рисунков, 31 таблицу.

Глава 1 Объекты исследования, биологическая роль макро- и микроэлементов в них. Выбор аналитических методов для проведения элементного количественного химического анализа исследуемых объектов

1.1 Объекты исследования. Влияние элементного состава на свойства и характеристики анализируемых объектов

1.1.1 Лекарственное растительное сырье

Лекарственные растения являются основным сырьем для изготовления ряда лечебных средств в народной медицине. Безусловно, лекарства из растений не обладают ярко выраженной фармакологической активностью, так как воздействуют на организм медленно, но в некоторых случаях именно растения оказываются эффективнее своих синтетических «собратьев». По производственным расчетам около (35-40) % препаратов производится из лекарственных растений, которые являются важным источником БАВ, причем ежегодно количество растительных препаратов увеличивается.

Спрос на лекарственные растения непрерывно возрастает в связи с натуральностью, относительной дешевизной, большим диапазоном лечебных свойств [3]. В качестве лекарственного сырья для изготовления препаратов возможно использование различных частей лекарственных растений, которые собирают в определенный период, высушивают с предварительной очисткой и сохраняют в определенных условиях. Использование всевозможных частей растения обусловлено наличием целого комплекса различных биологически активных веществ, в том числе макро- и микроэлементов [4, 5].

Биологическая роль макро- и микроэлементов в растениях. К макроэлементам в растениях относятся элементы органогены, фосфор, сера, калий, кальций, магний, кремний, в некоторых растениях железо, цинк и натрий также являются макрокомпонентами [6]. Металлы, которые относятся к макрокомпонентам, принимают участие в каталитических реакциях, которые оказывают влияние на обменные процессы. Но для каждого из них характерно проявлять свои особые свойства.

Микроэлементами называют химические элементы, необходимые для нормальной жизнедеятельности растений и животных, и используемые в микроколичествах по сравнению с основными компонентами питания. Микроэлементы в подавляющем большинстве активируют ферментативные системы. Важным моментом является то, что все они способны образовывать комплексные соединения с различными макромолекулами органических соединений, а также белками. Однако надо учитывать, что превышение дозы микроэлементов может оказать ядовитое влияние. Поэтому для нормального роста растений необходимо правильное соотношение микроэлементов [7-10].

В таблице 1 представлены содержание основных макро- и микроэлементов в растениях, форма существования и некоторые свойства.

Таблица 1 – Содержание, форма существования и некоторые свойства макро- и микроэлементов в растениях

Элемент	Содержание, %	Форма существования, некоторые свойства
Калий	0,9 %	Сосредоточен в молодых растущих тканях. Содержится в вакуолях, прочно связан с белками митохондрий и хлоропластов
Кальций	0,2 %	Регулирует усвоение белков и углеводов
Магний	0,17 %	Находится в составе хлорофилла. Усиливает синтез эфирных масел, каучука, витаминов А и С
Железо	0,08 %	Участвует в синтезе хлорофилла, обмена азота и серы, клеточном дыхании
Марганец	0,001 %	Активизирует работу ферментов, участвует в синтезе протеинов, углеводов и витаминов
Медь	0,0002 %	Концентрируется в хлоропластах, где содержится белок пластоцианин
Цинк	0,002 %	Принимает участие в образовании аминокислоты триптофана, оказывает влияние на синтез белков, а также фитогормона
Молибден	(0,0005-0,002) %	Концентрируется в молодых, растущих органах. Сосредоточен, в основном, в хлоропластах.
Кобальт	0,00002 %	Встречается в ионной форме и в витамине В ₁₂ . Активирует фермент гликолиза фосфоглюкомутазу и фермент аргиназу
Никель	0,00025 %	Входит в состав фермента уреазы, который позволяет осуществить реакцию разложения мочевины

1.1.2 Органы подопытных животных

Испытания новых лекарственных препаратов позволяет определить фармакологические эффекты, механизм действия и локализацию действующих веществ, а также закономерности, происходящие с лекарственным препаратом в организме. Для лабораторных исследований используют альбиносов норвежских крыс, или, по-другому «лабораторных крыс». Они используются в поведенческих, физиологических, медицинских и других видах исследований уже более века. Опыты на животных помогают выявить различные неблагоприятные побочные эффекты, связанные с применением данного препарата, во избежание проявления их у пациентов в будущем [11].

В данной работе проводилось исследование элементного состава внутренних органов и крови лабораторных крыс для оценки распределения химических элементов в организме данных животных, специально вводимых лекарственными препаратами. Были проанализированы ткани внутренних органов, такие как мозг, сердце, печень и почки, а также кровь крыс [12].

В организме животных найдено более 80 химических элементов, содержащихся в различных концентрациях. К биогенным микроэлементам, т.е. микроэлементам, необходимым для жизнедеятельности, относят Fe, Cu, Zn, I, Mn, Co, Mo, Se, Br, Ni, Sn, Si, F, V, Sr, Cr, Cd, As. Такие микроэлементы, как Fe, Cu, I, Co, Zn, Mn, Mo, Se, F играют важную роль в процессах жизнедеятельности. Они содержатся во всех тканях организма, но в больших количествах в так называемых депо микроэлементов – печени, селезенке, костях, почках, коже, сердце, поджелудочной железе и др.

Определение химического состава различных органов животных в настоящее время является актуальной задачей. Изучение химического состава органов животных, в частности подопытных животных, проводят с различными целями. Основными из них является изучение распределения химических элементов по различным органам. Так, например, одним из мощных дестабилизирующих факторов в отношении обмена эссенциальных элементов

является избыточное поступление в организм тяжелых металлов. В конечном итоге, данное действие проявляется в проявлении эффектов токсичности, затрагивающие основополагающие функции живых организмов. В списке токсикантов особое место занимают тяжелые металлы (Pb, Cd, Zn, Ti), избыточное поступление которых в организм может усугубляться наличием дефицита эссенциальных элементов, обладающих способностью к выведению вредных для организма веществ.

1.1.3 Клеши

Изменение природных условий в локальном, региональном и даже глобальном объеме – являются следствием геотехнических преобразований поверхности Земли, урбанизации, развития промышленности, сельского хозяйства и транспорта. Вредные выбросы от промышленных объектов оседают в почве, попадают в грунтовые воды и водоемы, а дальше целая цепочка продвижения тяжелых металлов, содержащихся в этих выбросах. Они попадают в растительность – корм растительноядных животных и птиц – клещи, питающиеся кровью. Постепенно происходит накопление, прежде всего, кадмия, связанного с ним свинца, веществ, которые участвуют в процессах метаболизма в любых организмах. Интересно то, что клещи реагируют на тяжелые металлы так же, как и люди. Это проявляется в деформации наружного скелета, искривлении всего тела. Эти внешние изменения – показатели болезни, ослабления иммунной системы клещей. Особь с ослабленной иммунной системой не может противостоять заражению возбудителями получаемыми с кровью прокормителей [18].

Способность к мутации и изменение активности у клещей обнаружил профессор зоологического института РАН Санкт-Петербурга Андрей Алексеев. Он выяснил, что в результате воздействия тяжелых металлов, клещ мутирует. Этот процесс происходит не в лучшую для людей сторону. Число зараженных клещей становится больше, они дольше функционируют, ведут себя более активно. По результатам исследований А.Алексеев утверждает, что эта же

мутация может «сыграть злую шутку с самими клещами». Иммуитет паукообразных может не выдержать, что приведет к смерти клещей [19].

Исследования показали, что мутации подвергаются иксодовые клещи, в организме которых накапливается кадмий и свинец. В них чаще встречаются вирусы и бактерии. Кроме того, в них в несколько раз больше возбудителей опасных для человека заболеваний, чем в обычных клещах. Клещи-мутанты могут быть носителями сразу нескольких опасных для человека инфекций. Меняется поведение клещей, они становятся более агрессивными. Их потомство является более чувствительным к заражению клещевыми патогенами (в данном случае - вирусом клещевого энцефалита). Результаты полевых наблюдений подтвердили большую частоту и более интенсивное заражение аномальных особей клещей [19-21].

Мутация в популяциях клещей наблюдается в изменении экзоскелета. Эти аномалии хорошо видны на спинных щитках в виде либо вдавленности или выпуклости (рисунок 1, а), либо в измененной поверхности щитка – «шагреновой коже», либо в искривлении всего тела клеща (рисунок 1, б). Исследования показали, что такие изменения хитинового покрова наблюдаются у клещей с повышенным содержанием в организме ионов тяжелых металлов, прежде всего – кадмия, который замещает в организме кальций [20].

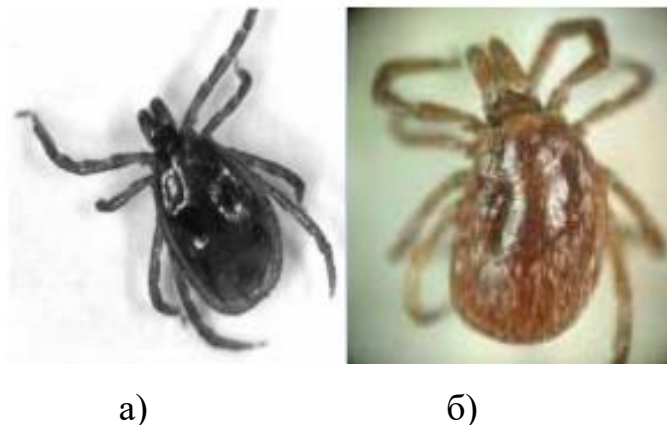


Рисунок 1 - Внешний вид иксодовых клещей с разными видами патологии экзоскелета

1.2 Выбор спектральных методов для проведения элементного количественного химического анализа анализируемых объектов

Для решения аналитических задач в области экологии, биологии и медицины для анализа исследуемых объектов целесообразно использовать метод ДАЭС с МАЭС для малого скрининга на 30 элементов, который позволяет проводить определение элементов в широком диапазоне концентраций от 0,01 мкг/г до 10000 мкг/г, данный диапазон перекрывает все возможные нормированные содержания [34]. Пробоподготовка проводится через «сухое озоление», что дополнительно позволяет определять зольность, которая часто регламентируется при исследовании данных объектов. Для расширения круга определяемых элементов при проведении большого скрининга от 50 до 70, элементов и снижения уровня определяемых концентраций по мере необходимости, целесообразно использовать более дорогостоящий метод масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. Для определения щелочных элементов предпочтение следует отдать методу пламенной фотометрии [35].

В настоящее время нет аттестованных методик для исследуемых в диссертационной работе объектов растительного и животного происхождения. Методики с близкими по природе объектами обладают рядом недостатков. Так методика для метода атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной аргоновой плазмой МУК 4.1.1482-03 [27] в которой речь идет о биосубстратах и сырье для изготовления биологически активных добавок, в том числе растительного происхождения, аттестована на ограниченное число элементов и имеет очень высокие значения относительной погрешности для низких концентраций, так на уровне (0,05-0,5) мкг/г и (0,01-0,1) мкг/г для большинства элементов погрешность достигает (50-80) отн.%, что не допустимо для проведения количественного спектрального анализа, скорее методика с данным уровнем погрешности может лишь претендовать на полуколичественный или даже качественный уровень. Методика МУК 4.1.1483-03 [28] с аналогичными объектами для метода масс-спектрометрии с индуктивно-связанной аргоновой

плазмой имеет очень близкие показатели качества измерения почти для всех элементов. Это говорит о том, что не оценены матричные взаимные влияния спектральной и неспектральной природы, т.е. метрологическая аттестация проведена не корректно. Современная новая методика для метода масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой ГОСТ 34141-2017 [29] используемая для пищевых продуктов, кормов и продовольственного сырья наиболее близкая к одному из исследуемых в работе объектов, а именно к лекарственному растительному сырью, обладает хорошими метрологическими характеристиками во всем диапазоне исследований, но ограничена лишь четырьмя элементами. Методика ГОСТ Р ИСО 27085-2012 [30] имеет оговорку, метод не применяется для определения низких концентраций элементов, минимально определяемая концентрация составляет 3 мг/кг. ГОСТ 32343-2013 (ISO 6869:2000) [31] и ПНД Ф 16.2.2:2.3.71-2011 [32] также рассчитаны на определение высоких концентрации и имеют ограниченное число определяемых элементов. Наиболее близкой для определения элементного состава в лекарственном растительном сырье является общая фармакопейная статья ОФС.1.5.3.0009.15 Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах [33]. Для анализа используют один из трех методов: атомно-абсорбционной спектрометрии; атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой и метод масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. В данной методике при проведении определения содержания тяжелых металлов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах могут быть использованы способы пробоподготовки основанные на сухой и мокрой минерализации. Метод пробоподготовки лекарственного растительного сырья и препаратов к анализу выбирают в соответствии с аппаратным оснащением аналитической лаборатории. Недостатком данной фармакопейной статьи является то, что она не является универсальной и для каждой лаборатории необходимо выбирать свой подход к анализу включая способ пробоподготовки, а также проводить валидацию, устанавливая показатели качества измерений в

каждом конкретном случае. Также методика имеет ограничение по определяемым элементам, что существенно снижает ее возможности для создания лекарственных препаратов широкого класса использования. Перечисленные методики не являются полностью близкими для исследуемых объектов в особенности для органов подопытных животных и клещей.

1.2.1 Дуговая атомно-эмиссионная спектрометрия с многоканальным анализатором эмиссионных спектров (ДАЭС с МАЭС)

В настоящее время атомно-эмиссионная спектрометрия (АЭС) – один из наиболее информативных и оперативных многоэлементных методов анализа. Начиная с 1992 года компанией «ВМК – Оптоэлектроника» в сотрудничестве с академическими институтами г. Новосибирска разработан и освоен в производстве ряд приборов, предназначенных для применения в составе существующих и создания новых комплексов для атомно-эмиссионного спектрального анализа [38].

В ходе исследований спектры возбуждали в дуговом разряде постоянного тока, поддерживаемом генератором «Везувий», регистрировали с помощью спектрометра «Гранд», оснащенного анализатором МАЭС («ВМК – Оптоэлектроника», г. Новосибирск), в режимах временных разверток и интегральных сигналов, формируемых за время экспозиции. Кроме того, в спектроаналитический комплекс входит программный пакет «Атом 3.2», работающий в среде Windows XP. Программа «Атом 3.2» позволяет управлять всеми стадиями количественного спектрального анализа – выполнением измерений, обработкой аналитического сигнала, построением градуировочных графиков, статистической обработкой полученных результатов [39, 40].

Спектрометры «Гранд» созданы по схеме Пашена-Рунге на основе неклассической вогнутой дифракционной решётки и двух анализаторов МАЭС (с 12 и 8 линейками фотодиодов). Кристаллы линеек расположены по дуге с радиусом 500 мм. Рабочий диапазон спектрометра: 190-470 нм. Многоканальный анализатор эмиссионных спектров состоит из гибридной сборки линеек

фотодетекторов, блока электронной регистрации для управления сборкой, преобразования выходных сигналов линеек в цифровые значения. Регистрация спектров с использованием спектроаналитического комплекса в такой комплектации позволяет расширить круг анализируемых объектов и определяемых элементов, увеличить диапазон определяемых концентраций и точность анализа, снизить пределы обнаружения, создать базы данных результатов и их хранения [41, 42].

1.2.2 Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) низкого разрешения (Agilent 7500cx)

В последние годы широкое распространение среди аналитических методов получил метод масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС). Метод позволяет проводить определение микроэлементов в различных по составу и происхождению образцах, благодаря экспрессности, широкому линейному динамическому диапазону определяемых концентраций, небольшому количеству материала, необходимого для проведения анализа, высокой инструментальной чувствительности и широкому развитию инструментальной базы. За счет высокого потенциала ионизации аргона метод ИСП-МС позволяет определять порядка 80 элементов периодической системы.

Основными проблемами метода ИСП-МС являются высокие требования к чистоте используемых реактивов, кислотности растворов ($<5\%$) и общему солевому составу анализируемых растворов ($<0,1\%$), а также матричное влияние – спектральное (в виде интерференций на определяемые изотопы) и неспектральное (в виде подавления чувствительности).

Матричное влияние. При анализе проб с высокой концентрацией матрицы стоит учитывать следующие факторы:

1. Чувствительность для элементов с высоким потенциалом ионизации может значительно снижаться (степень ионизации становится значительно ниже для микроэлементов, таких как Be, As, Se, Cd, Hg, если температура плазмы снижена).

2. Высокая концентрация матрицы может приводить к образованию полиатомных наложений.

3. Сигнал от макрокомпонентов может выйти за рамки линейного диапазона [43-48].

Спектральное матричное влияние. Одним из главных ограничений метода прямого элементного анализа являются спектроскопические интерференции. Они вызываются атомными или молекулярными ионами, имеющими такую же номинальную массу, что и изотоп анализируемого элемента, например, $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$ и $^{56}\text{Fe}^+$ ($m/z = 56$). Результирующий интерферирующий сигнал может исказить или полностью перекрыть истинный аналитический сигнал, так что точность определения, равно как и предел обнаружения элемента, значительно ухудшаются [49, 50].

Спектральные интерференции подразделяются на:

- изобарные наложения, вызванные перекрытием сигналов ионов изотопов различных элементов с близкой номинальной массой, например, $^{87}\text{Rb}^+$ на $^{87}\text{Sr}^+$;
- наложения двухзарядных ионов, например, $^{138}\text{Ba}^{++}$ на $^{69}\text{Ga}^+$;
- полиатомные наложения, вызванные образованием в плазме ионов, содержащих более чем один атом элемента.

Подавление спектральных наложений. Одним из способов подавления спектральных интерференций является использование так называемых систем подавления. Использование таких систем позволяет снижать влияния аргоновых и полиатомных ионов и, в некоторых случаях, изобарных интерференций [49]. Система располагается в вакуумной части масс-спектрометра между отклоняющей оптикой и масс-анализатором и представляет собой мультиполь (4, 6 или 8 стержней) небольшой длины, в пространство, между стержнями которого подается газ. Очевидно, что условия в ячейках подбираются таким образом, чтобы наибольшие изменения претерпевали именно ионы-интерференты [51,52].

Еще одним способом учета полиатомных интерференций является математическая коррекция, путем вывода уравнений для каждого анализируемого

изотопа [52]. Некоторые из наиболее распространенных полиатомных итерференций приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Возможные спектральные интерференции, в методе масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой

Элемент	Масса, а.е.м.	Интерференции
Na	23	${}^7\text{Li}^{16}\text{O}^+, {}^6\text{Li}^{17}\text{O}^+$
Mg	24	${}^7\text{Li}^{17}\text{O}^+, {}^6\text{Li}^{18}\text{O}^+, {}^7\text{Li}^{16}\text{OH}^+, {}^6\text{Li}^{17}\text{OH}^+, {}^6\text{Li}^{16}\text{OH}^+$
Si	28	${}^{12}\text{C}^{16}\text{O}^+, {}^{11}\text{B}^{17}\text{O}^+, {}^{10}\text{B}^{18}\text{O}^+, {}^{11}\text{B}^{16}\text{OH}^+, {}^{10}\text{B}^{17}\text{OH}^+, {}^9\text{Be}^{18}\text{OH}^+, {}^{10}\text{B}^{16}\text{OH}^+, {}^9\text{Be}^{17}\text{OH}^+, {}^{28}\text{N}_2^+$
K	39	${}^{23}\text{Na}^{16}\text{O}^+, {}^{38}\text{ArH}^+$
Ca	42	${}^{26}\text{Mg}^{16}\text{O}^+, {}^{25}\text{Mg}^{17}\text{O}^+, {}^{24}\text{Mg}^{18}\text{O}^+, {}^{40}\text{Ar}^{2}\text{H}^+, {}^{24}\text{Mg}^{17}\text{OH}^+, {}^{23}\text{Na}^{18}\text{OH}^+, {}^{24}\text{Mg}^{16}\text{OH}^+, {}^{23}\text{Na}^{17}\text{OH}^+, {}^{40}\text{ArH}^+$
Sc	45	${}^7\text{Li}^{38}\text{Ar}^+, {}^9\text{Be}^{36}\text{Ar}^+, {}^{29}\text{Si}^{16}\text{O}^+, {}^{28}\text{Si}^{16}\text{OH}^+, {}^{27}\text{Al}^{18}\text{O}^+, {}^{10}\text{B}^{35}\text{Cl}^+, \text{CO}_2\text{H}^+$
Ti	48	${}^{48}\text{Ca}^+, {}^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+, {}^{31}\text{P}^{17}\text{O}^+, {}^{30}\text{Si}^{18}\text{O}^+, {}^{12}\text{C}^{36}\text{Ar}^+, {}^{10}\text{B}^{38}\text{Ar}^+, {}^8\text{Li}^{40}\text{Ar}^+, {}^{47}\text{TiH}^+, {}^{31}\text{P}^{16}\text{OH}^+, {}^{30}\text{Si}^{16}\text{OH}^+, {}^{29}\text{Si}^{18}\text{OH}^+, {}^{34}\text{S}^{14}\text{N}^+, {}^{36}\text{Ar}^{12}\text{C}^+, {}^{35}\text{Cl}^{13}\text{C}^+$
V	51	${}^{11}\text{B}^{40}\text{Ar}^+, {}^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+, {}^{50}\text{TiH}^+, {}^{50}\text{CrH}^+, {}^{50}\text{VH}^+$
Cr	52	${}^{12}\text{C}^{40}\text{Ar}^+, {}^{16}\text{O}^{36}\text{Ar}^+, {}^{35}\text{Cl}^{17}\text{O}^+, {}^{51}\text{VH}^+$
Mn	55	${}^{39}\text{K}^{16}\text{O}^+, {}^{38}\text{Ar}^{17}\text{O}^+, {}^{37}\text{Cl}^{18}\text{O}^+, {}^{40}\text{Ar}^{15}\text{N}^+, {}^{38}\text{Ar}^{16}\text{OH}^+, {}^{37}\text{Cl}^{17}\text{OH}^+, {}^{36}\text{S}^{18}\text{OH}^+, {}^{36}\text{Ar}^{18}\text{OH}^+$
Fe	57	${}^{41}\text{K}^{16}\text{O}^+, {}^{40}\text{K}^{17}\text{O}^+, {}^{39}\text{K}^{18}\text{O}^+, {}^{40}\text{Ar}^{17}\text{O}^+, {}^{40}\text{K}^{16}\text{OH}^+, {}^{39}\text{K}^{17}\text{OH}^+, {}^{38}\text{Ar}^{18}\text{OH}^+$
Co	59	${}^{23}\text{Na}^{36}\text{Ar}^+, {}^{43}\text{Ca}^{16}\text{O}^+, {}^{42}\text{Ca}^{16}\text{OH}^+, {}^{58}\text{NiH}^+, {}^{58}\text{FeH}^+$
Ni	60	${}^{24}\text{Mg}^{36}\text{Ar}^+, {}^{44}\text{Ca}^{16}\text{O}^+, {}^{43}\text{Ca}^{16}\text{OH}^+, {}^{25}\text{Mg}^{35}\text{Cl}^+, {}^{59}\text{CoH}^+$
Zn	66	${}^{26}\text{Mg}^{40}\text{Ar}^+, {}^{28}\text{Si}^{38}\text{Ar}^+, {}^{30}\text{Si}^{36}\text{Ar}^+, {}^{50}\text{Ti}^{16}\text{O}^+, {}^{50}\text{Cr}^{16}\text{O}^+, {}^{49}\text{Ti}^{16}\text{OH}^+, {}^{65}\text{CuH}^+$
Ce	140	${}^{100}\text{Mo}^{40}\text{Ar}^+, {}^{100}\text{Ru}^{40}\text{Ar}^+, {}^{102}\text{Pd}^{38}\text{Ar}^+, {}^{102}\text{Ru}^{38}\text{Ar}^+, {}^{104}\text{Pd}^{36}\text{Ar}^+, {}^{104}\text{Ru}^{36}\text{Ar}^+, {}^{124}\text{Te}^{16}\text{O}^+, {}^{124}\text{Sn}^{16}\text{O}^+, {}^{124}\text{Xe}^{16}\text{O}^+, {}^{123}\text{Te}^{16}\text{OH}^+, {}^{123}\text{Sb}^{16}\text{OH}^+, {}^{122}\text{Sn}^{18}\text{O}^+, {}^{122}\text{Te}^{18}\text{O}^+$
Eu	151	${}^{111}\text{Cd}^{40}\text{Ar}^+, {}^{113}\text{Cd}^{38}\text{Ar}^+, {}^{113}\text{In}^{38}\text{Ar}^+, {}^{115}\text{Sn}^{36}\text{Ar}^+, {}^{115}\text{In}^{36}\text{Ar}^+, {}^{135}\text{Ba}^{16}\text{O}^+, {}^{134}\text{Ba}^{16}\text{OH}^+, {}^{134}\text{Xe}^{16}\text{OH}^+, {}^{116}\text{Sn}^{35}\text{Cl}^+, {}^{116}\text{Cd}^{35}\text{Cl}^+, {}^{114}\text{Cd}^{37}\text{Cl}^+, {}^{114}\text{Sn}^{37}\text{Cl}^+$

Gd	157	$^{117}\text{Sn}^{40}\text{Ar}^+$, $^{119}\text{Sn}^{38}\text{Ar}^+$, $^{121}\text{Sb}^{36}\text{Ar}^+$, $^{141}\text{Pr}^{16}\text{O}^+$, $^{140}\text{Ce}^{16}\text{OH}^+$, $^{139}\text{La}^{18}\text{O}^+$, $^{122}\text{Sn}^{35}\text{Cl}^+$, $^{122}\text{Te}^{35}\text{Cl}^+$, $^{120}\text{Sn}^{37}\text{Cl}^+$, $^{120}\text{Te}^{37}\text{Cl}^+$, $^{143}\text{Nd}^{14}\text{N}^+$
Lu	175	$^{135}\text{Ba}^{40}\text{Ar}^+$, $^{137}\text{Ba}^{38}\text{Ar}^+$, $^{139}\text{La}^{36}\text{Ar}^+$, $^{159}\text{Tb}^{16}\text{O}^+$, $^{158}\text{Gd}^{16}\text{OH}^+$, $^{158}\text{Dy}^{16}\text{OH}^+$, $^{157}\text{Gd}^{18}\text{O}^+$, $^{140}\text{Ce}^{35}\text{Cl}^+$, $^{138}\text{Ba}^{37}\text{Cl}^+$, $^{138}\text{Ce}^{37}\text{Cl}^+$, $^{138}\text{La}^{37}\text{Cl}^+$, $^{161}\text{Dy}^{14}\text{N}^+$
Hf	178	$^{138}\text{Ba}^{40}\text{Ar}^+$, $^{138}\text{Ce}^{40}\text{Ar}^+$, $^{138}\text{La}^{40}\text{Ar}^+$, $^{140}\text{Ce}^{38}\text{Ar}^+$, $^{142}\text{Nd}^{36}\text{Ar}^+$, $^{142}\text{Ce}^{36}\text{Ar}^+$, $^{162}\text{Dy}^{16}\text{O}^+$, $^{162}\text{Er}^{16}\text{O}^+$, $^{161}\text{Dy}^{16}\text{OH}^+$, $^{160}\text{Gd}^{18}\text{O}^+$, $^{160}\text{Dy}^{18}\text{O}^+$, $^{143}\text{Nd}^{35}\text{Cl}^+$, $^{141}\text{Pr}^{37}\text{Cl}^+$
U	238	$^{198}\text{Hg}^{40}\text{Ar}^+$, $^{200}\text{Hg}^{38}\text{Ar}^+$, $^{202}\text{Hg}^{36}\text{Ar}^+$, $^{203}\text{Tl}^{35}\text{Cl}^+$, $^{201}\text{Hg}^{37}\text{Cl}^+$

Производители масс-спектрометров стремятся уменьшить или исключить полностью интерференции модернизацией простой квадрупольной схемы следующими способами:

- подавлением спектральных наложений путем воздействия на поток ионов;
- увеличением разрешения масс-спектрометра [45].

Неспектральное матричное влияние. Матричный эффект может проявляться на всех стадиях измерений, начиная от распыления образца, и заканчивая прохождением системы ионной оптики.

На стадии распыления матричный эффект может проявляться, если вязкость и/или поверхностное натяжение анализируемого образца и градуировочных графиков сильно отличаются. В этом случае эффективность распыления и состав аэрозоля по размеру капель для градуировочного и анализируемого образца будет разным, что приведет к получению неправильных результатов. Зачастую в масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой требуется определять микропримеси на фоне высоких концентраций основного вещества – матрицы или основы. При анализе растворов с высоким содержанием матрицы (более (0,1-0,5) г/л) может иметь место значительное (до 50 % и более) понижение чувствительности прибора [51].

Легкоионизируемые матричные элементы – Li, Na, K, Rb, Cs (элементы, у которых первый потенциал ионизации не превышает 5,5 эВ), приводят к образованию высокой электронной плотности в плазме. Высокое содержание

электронов уменьшает сигнал за счет смещения равновесия ионизации других элементов в сторону атомарного состояния. Эффект легкоионизируемых элементов особенно заметен для трудноионизируемых элементов, таких как Be, B, Si, P, Zn, As, Se, Br, Cd, Sb, Te, Hg.

Неспектральные матричные эффекты могут быть смягчены разбавлением образца, экстракцией и удалением матрицы. Кроме того, для учета и коррекции дрейфа чувствительности прибора, широко используется метод внутреннего стандарта. С той же целью прибегают к подготовке калибровочных образцов со сходной матрицей, однако этот подход оправдан только в том случае, если основа анализируемых образцов не изменяется по количественному и качественному составу и не является сложной [53].

Для уменьшения матричного эффекта в ИСП-МС также используют устойчивые настройки работы системы ввода образца и источника ионов. Эти настройки связаны с снижением количества поступающего в плазму аэрозоля за счет уменьшения расхода образца и распылительного газа с одновременным увеличением мощности плазмы и расстояния между горелкой и пробоотборным конусом. Это приводит к увеличению времени пребывания образца в плазме и количества подводимой к нему энергии, что в свою очередь повышает степень ионизации атомов и снижает подавление ионизации в присутствии легкоионизирующихся элементов. В отличие от стандартных настроек спектрометра, ориентированных на достижение максимальной чувствительности, устойчивые настройки приводят к ее снижению, но позволяют уменьшить величину матричного эффекта [49].

В работе использован масс-спектрометр с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7500cx. В состав масс-спектрометра входят: устройство ввода пробы, источник индуктивно-связанной плазмы, система ионных линз, квадрупольный масс-спектрометр низкого разрешения, детектор, программное обеспечение ICP-MS ChemStation, система автоматической подачи образца – автосамплер.

Анализ образцов проводили в отсутствии систем подавления спектральных матричных влияний (реакционной и столкновительной ячейки), что стало

причиной невозможности определения «легких» и некоторых «средних» по массе элементов, из-за значительного вклада полиатомных интерференций.

Градуировку масс-спектрометра проводили на основе анализа градуировочных растворов с использованием стандартных мультиэлементных растворов производства Agilent Technologies.

Вывод к главе 1

Отсутствие новых аттестованных методик количественного химического анализа исследуемых объектов не позволяет проводить одновременный многоэлементный анализ. Для определения широкого круга элементов необходимо использовать комбинацию методов, представленных на современном рынке аналитических услуг. В данной работе предложено использовать методы атомно-эмиссионного спектрального анализа с многоканальным анализатором эмиссионных спектров (ДАЭС с МАЭС), масс-спектрометрию с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС), пламенную фотометрию (ПФ).

Глава 2 Метрологическое моделирование для обоснования выбора спектральных методов для количественного химического анализа исследуемых объектов

2.1 Алгоритмы оценивания приемлемости выбора аналитических методов

В соответствии с ГОСТ ISO/IEC 17025 [34] испытательная лаборатория (в том числе применяющая методики элементного количественного химического анализа) должна иметь процедуры управления качеством лаборатории для того, чтобы контролировать достоверность проведенных испытаний (анализа). Основным элементом подтверждения достоверности результатов анализа является реализация в лаборатории процедур внутреннего контроля качества результатов анализа. Целями внутреннего контроля качества результатов анализа являются обеспечение необходимой точности результатов текущего анализа, экспериментальное подтверждение силами самой лаборатории своей технической компетентности, а также обеспечение доверия к результатам анализа как внутри лаборатории, организации, в составе которой работает лаборатория, так и со стороны других организаций (потребителей продукции, которую анализирует лаборатория, контролирующих организаций и т.п.).

Работа выполнена в двух аккредитованных лабораториях, входящих в испытательный центр Томский региональный центр коллективного пользования Томского государственного университета (<http://ckp.tsu.ru/>). Для предварительной оценки выбора методов анализа биологических объектов с целью последующего создания методик и включения их дополнительно в область аккредитации применили метрологическое моделирование, заключающееся в предварительном оценивании показателей качества измерений ниже которых предполагаемые методы и методики не приемлемы для анализа выбранных объектов.

Для моделирования с целью оценки выбора аналитических методов воспользовались алгоритмом, применяемым для проведения оперативного контроля РМГ 76-2014 [35] – оценка контрольной процедуры для контроля

точности (КПКТ) с применением образца для контроля (ОК) позволяющего оценить выполнение процедуры анализа в целом. КПКТ применяют при наличии ОК либо возможности и экономической целесообразности их создания в лаборатории для осуществления процедур внутреннего контроля качества результатов анализа. Образцы для контроля должны быть схожи с анализируемыми образцами (возможные различия в составах ОК и анализируемых проб не должны вносить в результаты анализа дополнительную статистически значимую погрешность/неопределенность). При реализации контрольной процедуры получают результат контрольного измерения аттестованной характеристики образца для контроля и сравнивают его с аттестованным значением. За результат контрольного измерения принимают среднеарифметическое значение результатов параллельных определений. Результат контрольной процедуры рассчитывали по формуле 2.1:

$$K_k = | \bar{x} - c |, \quad (2.1)$$

где $\bar{x}$ – результат контрольного измерения;

c – соответствующее аттестованное значение ОК.

Норматив контроля рассчитывали по формуле 2.2:

$$K_n = c * \delta, \quad (2.2)$$

где c – соответствующее аттестованное значение ОК;

δ – смоделированное значение погрешности. Расчет норматива контроля проводили при разном значении погрешности (10 %, 20 %, 30 % и т.д).

Сопоставляли результат контрольной процедуры с нормативом контроля. Если результат контрольной процедуры удовлетворяет условию 2.3:

$$|K_k| \leq K_n \quad (2.3)$$

процедуру анализа признавали удовлетворительной.

2.2 Выбор стандартных образцов для предварительной оценки показателей качества аналитических методов

Выбор стандартных образцов основан на близости по химическому составу и биологическому происхождению с анализируемыми образцами. В работе для предварительной оценки аналитических методов и дальнейшей оценки показателей качества разработанных методик использовали следующие стандартные образцы: стандартный образец состава травосмеси Тр-1 (ГСО 8922-2007, разработанный институтом геохимии им. А.П.Виноградова СО РАН, г. Иркутск) [56]; стандартный образец состава листа березы Лб-1 (ГСО 8923-2007, разработанный институтом геохимии им. А.П.Виноградова СО РАН, г. Иркутск) [57]; стандартные образцы состава ткани трески (MODAS-4 Cormorant Tissue, Польша) [58] и колюбри (MODAS-5 Cod Tissue, Польша) [59].

2.3 Предварительное оценивание показателей качества метода ДАЭС с МАЭС

Для проведения элементного анализа методом дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии с многоканальным анализатором эмиссионных спектров с использованием стандартных образцов отбирали навеску исследуемой пробы массой 1 г (взвешенную с точностью до четвертого знака) в предварительно взвешенную чашку. Далее исследуемый образец помещали в холодную муфельную печь и нагревали до температуры (400-450) °С. Образцы выдерживали при данной температуре до постоянной массы. Чашку с зольным остатком охлаждали до температуры окружающей среды и взвешивали на весах. Массу зольного остатка (г) находили по формуле 2.4:

$$\Delta m = m_2 - m_1, \quad (2.4)$$

где m_2 – масса чашки с зольным остатком, г;

m_1 – масса пустой чашки, г.

Полученные зольные остатки тщательно растирали в агатовой ступке в присутствии нескольких капель этилового спирта до однородного состояния в

течение (20-30) минут агатовым пестиком, до однородной порошкообразной смеси и разбавляли графитовым порошком в 10 и 100 раз последовательно. Для анализа основных матричных элементов использовали разбавление 1:100, для анализа примесей 1:10. Параллельно с пробами готовили три холостых (контрольных) опыта. Все операции для холостого опыта аналогичны анализируемым пробам. Результаты холостого опыта автоматически вычитали из полученных результатов с помощью программного комплекса «Атом» [60, 61]. Результаты с учетом зольности и разбавления представлены в таблицах 3-5. Модельные значения показателей точности рассчитывали с учетом алгоритмов, описанных в пункте 2.1. Условно будем считать удовлетворительными результаты спектрального анализа примесей, полученных с точностью 20 отн. %, а микропримесей с точностью 40 отн. %, превышение этого уровня переводит анализ в ранг полуколичественного. Из таблицы 3, видно, что основные элементы определяются с высоким уровнем точности, однако, что касается микропримесей (таблицы 4, 5), то большинство результатов превышают установленный уровень точности, что указывает на необходимость учета матричных влияний при разработке методик выполнения измерений.

Таблица 3 – Проверка точности результатов, путем предварительного оценивания рассчитанной смоделированной погрешности (δ , %), при определении основных элементов в стандартном образце ЛБ-1 ($P=0,95$, $n=5$)

Элемент	Аттестованное значение, мкг/г	Найдено, мкг/г	$K_k = \bar{x} - c $	$\delta = K_k / c \cdot 100 (\%)$ при $K_k = K_n$	Заключение
Al	830	724	106	13	Удовл.
Ba	230	200	30	13	Удовл.
Ca	16000	15469	531	3	Удовл.
Fe	730	630	100	14	Удовл.
Mg	4400	4558	158	4	Удовл.
Mn	930	763	167	18	Удовл.
P	1540	1668	128	8	Удовл.
Si	4000	3645	355	9	Удовл.
Zn	94	76	18	20	Удовл.

Таблица 4 – Проверка точности результатов, путем предварительного оценивания рассчитанной смоделированной погрешности (δ , %), при определении микроэлементов в стандартном образце ЛБ-1 ($P=0,95$, $n=5$)

Элемент	Аттестованное значение, мкг/г	Найдено, мкг/г	$K_k = \bar{x} - c $	$\delta = K_n/c \cdot 100$ (%) при $K_k = K_n$	Заключение
B	50	28	22	44	Неудов.
Be	0,05	0,03	0,02	40	Неудов.
Cd	0,16	0,24	0,08	50	Неудов.
Co	0,79	0,65	0,14	18	Удовл.
Cr	4,3	3,7	0,6	14	Удовл.
Cu	7,3	9,9	2,6	36	Удовл.
Mo	0,16	0,09	0,07	44	Неудов.
Ni	5,8	3,3	2,5	43	Неудов.
Pb	3,7	1,9	1,8	49	Неудов.
Ti	59	34	25	42	Неудов.
V	2,1	1,2	0,9	43	Неудов.
W	0,3	0,5	0,2	67	Неудов.
Zr	5,5	3,2	2,3	42	Неудов.

Таблица 5 – Проверка точности результатов, путем предварительного оценивания рассчитанной смоделированной погрешности (δ , %), при определении микроэлементов в образце ТР-1 ($P=0,95$, $n=5$)

Элемент	Аттестованное значение, мкг/г	Найдено, мкг/г	$K_k = \bar{x} - c $	$\delta = K_n/c \cdot 100$ (%) при $K_k = K_n$	Заклучение
B	11,2	21,5	10,3	92	Неудов.
Be	0,014	0,019	0,005	36	Удовл.
Cd	0,051	0,072	0,021	41	Неудов.
Co	0,22	0,39	0,17	77	Неудов.
Cr	5,5	3,6	1,9	36	Удовл.
Cu	6,3	2,9	3,4	54	Неудов.
Mo	0,25	0,38	0,13	52	Неудов.
Ni	3,2	2,6	0,6	19	Удовл.

Окончание таблицы 5

Pb	0,42	0,14	0,28	67	Неудов.
Ti	33,3	20,6	12,7	38	Удовл.
V	0,61	0,44	0,17	28	Удовл.
W	0,080	0,123	0,043	54	Неудов.
Zn	23,6	16,8	6,8	29	Удовл.
Zr	0,9	1,7	0,8	89	Неудов.

2.4 Предварительное оценивание показателей качества метода ИСП-МС низкого разрешения

Пробоподготовка осуществлялась путем перевода исследуемых проб в раствор с помощью 7 мл концентрированной азотной кислоты и 2 мл концентрированной перекиси водорода с использованием системы микроволнового разложения Milestone Start D (200 °C, 700 Вт) [62]. Полученные растворы высушивались до состояния влажных солей при температуре 110 °C. Сухие остатки переносились в одноразовые полипропиленовые пробирки объемом 50 мл с помощью фонового раствора: (7-10) мл 15% - ной азотной кислотой со следами плавиковой кислоты. Перед началом анализа в каждую пробу добавляли внутренний стандарт - 0,1 мл раствора индия ($c = 10$ мг/л) и доводили до 15 мл тем же самым фоновым раствором. Полученные растворы анализировали методом масс-спектрометрии с ИСП на приборе Agilent 7500сх (выходная мощность генератора - 1500 Вт, тип распылителя - MicroMist (микроаэрозольный)).

Из таблиц 6-7, следует, что определение основных элементов и примесей методом ИСП-МС на используемом оборудовании невозможно с высокой точностью. Для определения редкоземельных элементов и микрокомпонентов (таблица 8) прослеживается достаточно высокая точность, что говорит о возможности применения метода.

Таблица 6 – Проверка точности результатов, путем предварительного оценивания рассчитанной смоделированной погрешности (δ , %), при определении элементов в стандартном образе состава М-4 ($P=0,95$, $n=5$)

Элемент	Аттестованное значение, мкг/г	Найдено, мкг/г	$K_k = \bar{x} - c $	$\delta = K_n/c \cdot 100$ (%) при $K_k = K_n$	Заключение
Na	2200	4160	1960	89	Неудов.
Mg	1000	1757	757	76	Неудов.
K	11900	7510	4390	37	Неудов.
Ca	258	371	113	44	Неудов.
V	0,0078	0,0086	0,0008	10	Удовл.
Cr	0,158	0,204	0,046	29	Удовл.
Fe	280	397	117	42	Неудов.
Mn	2,16	2,84	0,68	31	Удовл.
Co	0,041	0,075	0,034	83	Неудов.
Cu	19,5	12,0	7,8	40	Неудов.
Zn	63,4	45,9	17,5	28	Удовл.
Se	1,27	0,82	0,45	35	Неудов.
Rb	13,4	15,9	2,5	19	Удовл.
Sr	0,24	0,04	0,20	83	Неудов.
Mo	0,091	0,051	0,040	44	Неудов.
Ag	0,0038	0,0020	0,0018	47	Неудов.
Cd	0,0172	0,0087	0,0085	49	Неудов.
Sb	0,067	0,074	0,007	10	Удовл.
Cs	0,0358	0,0371	0,0013	4	Удовл.
Pb	2,33	2,79	0,46	20	Удовл.

Таблица 7 – Проверка точности результатов, путем предварительного оценивания рассчитанной смоделированной погрешности (δ , %), при определении элементов в стандартном образе состава М-5 ($P=0,95$, $n=5$)

Элемент	Аттестованное значение, мкг/г	Найдено, мкг/г	$K_k = \bar{x} - c $	$\delta = K_n/c \cdot 100$ (%) при $K_k = K_n$	Заключение
Li	0,026	0,014	0,012	46	Неудов.
Na	3400	4744	1344	40	Неудов.
Mg	1200	736	464	39	Неудов.
K	19300	10582	8718	45	Неудов.
Ca	1100	1629	529	48	Неудов.
Cr	0,201	0,266	0,065	32	Удовл.
Fe	13,2	22,0	8,8	67	Неудов.
Mn	0,921	1,447	0,526	57	Неудов.
Co	0,014	0,023	0,009	64	Неудов.
Ni	0,136	0,233	0,097	71	Неудов.
Cu	1,38	2,40	1,02	74	Неудов.
Zn	20,1	18,0	2,1	10	Удовл.
Se	1,33	1,02	0,31	23	Удовл.
Rb	4,54	4,21	0,33	7	Удовл.
Sr	4,07	6,15	2,08	51	Неудов.
Cd	0,005	0,002	0,003	60	Неудов.
Cs	0,059	0,075	0,016	27	Удовл.
Ba	0,162	0,146	0,016	10	Удовл.
Pb	0,045	0,080	0,035	78	Неудов.
Bi	0,007	0,006	0,001	14	Удовл.

Таблица 8 – Проверка точности результатов, путем предварительного оценивания рассчитанной смоделированной погрешности (δ , %), при определении редкоземельных элементов в стандартном образе состава травосмеси Тр-1 ($P=0,95$, $n=5$)

Элемент	Аттестованное значение, мкг/г	Найдено, мкг/г	$K_k = \bar{x} - c $	$\delta = K_n/c \cdot 100$ (%) при $K_k = K_n$	Заключение
La	0,26	0,29	0,03	11	Удовл.
Ce	0,5	0,6	0,1	20	Удовл.
Pr	0,06	0,05	0,01	17	Удовл.
Nd	0,22	0,17	0,05	23	Удовл.
Sm	0,04	0,03	0,01	25	Удовл.
Eu	0,0095	0,0087	0,0008	8	Удовл.
Gd	0,05	0,03	0,02	40	Удовл.
Tb	0,01	0,009	0,001	10	Удовл.
Dy	0,04	0,03	0,01	25	Удовл.
Ho	0,007	0,005	0,002	29	Удовл.
Er	0,017	0,019	0,002	12	Удовл.
Tm	0,003	0,002	0,001	33	Удовл.
Yb	0,018	0,013	0,005	28	Удовл.
Lu	0,0029	0,0022	0,0007	24	Удовл.
Hf	0,04	0,03	0,01	25	Удовл.
Ta	0,008	0,006	0,002	25	Удовл.
W	0,08	0,04	0,04	50	Неудов.
Tl	0,011	0,009	0,002	18	Удовл.
Pb	0,42	0,21	0,21	50	Неудов.
Th	0,055	0,043	0,012	22	Удовл.
U	0,017	0,011	0,006	35	Удовл.

Вывод к главе 2

Проведенное предварительное метрологическое моделирование, показывает возможность использования метода ДАЭС с МАЭС для определения макроэлементов. Для повышения точности определения микроэлементов методом ДАЭС с МАЭС необходимо учитывать матричное влияние путем

усовершенствования способов пробоподготовки или введением коэффициентов пересчета. Для определения редких и редкоземельных элементов целесообразно использовать метод ИСП-МС. Таким образом, комбинация методов ДАЭС с МАЭС и ИСП-МС может быть использована для проведения полного количественного химического анализа исследуемых объектов.

Глава 3 Оптимизация условий проведения спектрального анализа методом ДАЭС с МАЭС

3.1 Лекарственное растительное сырье

3.1.1 Пробоподготовка образцов лекарственного растительного сырья

Для проведения качественного и количественного анализа методом ДАЭС с МАЭС образцы лекарственных растений, предварительно высушенные и измельченные, переводили в золу. Для этого навеску массой (1,0000-5,0000) г, воздушно-сухого растительного сырья озоляли в муфельной печи при температуре $(450 \pm 10) ^\circ\text{C}$ до постоянной массы в соответствии с рекомендациями государственной фармакопии Российской Федерации ГФ XIV (2018) [63].

Для количественного определения основных элементов необходимо было выбрать оптимальную степень разбавления графитовым порошком. Для выбора степени разбавления использовали реальные образцы зольных остатков растений, которые разбавляли последовательно в 10, 50, 100, 500 и 1000 раз графитовым порошком. Элементный количественный анализ проводили методом ДАЭС с МАЭС. По полученным данным были построены зависимости $c = f(\lg K_p)$ (K_p – степень разбавления). Для выбора оптимальной степени разбавления на графических зависимостях показан интервал содержания элементов согласно литературным данным (референтные значения). На рисунке 2, на примере магния и кальция показаны зависимости полученных результатов от коэффициента разбавления.

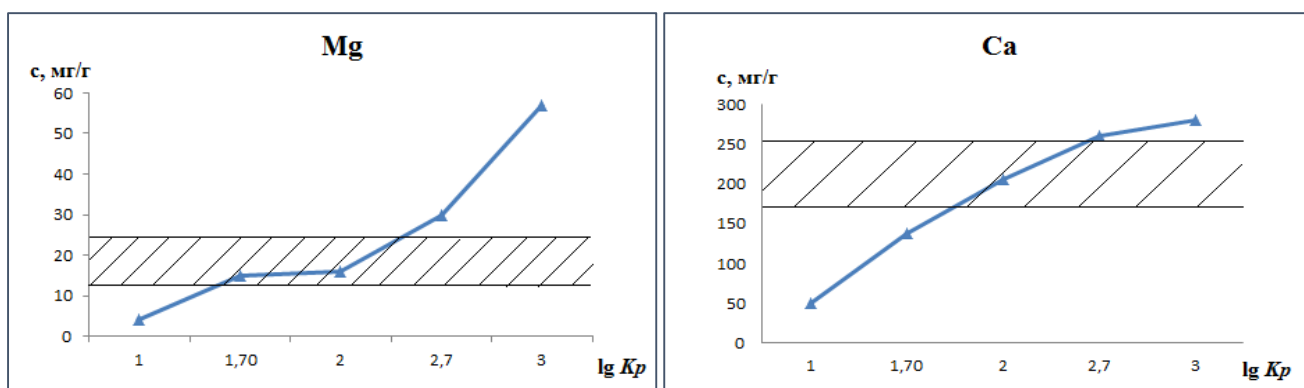


Рисунок 2 – Влияние степени разбавления зольных остатков графитовым порошком на правильность определения магния и кальция

Из рисунка 2 видно, что при низких значениях коэффициента разбавления ($K_p = 10$) наблюдается занижение результата, что может быть обусловлено появлением и влиянием матричного эффекта. При разбавлении от 50 до 100 раз полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными. Дальнейшее разбавление приводит к завышенным результатам, что может быть обусловлено влиянием холостого опыта, который становится значимым с ростом степени разбавления.

Результаты проведенных исследований показали, что для определения основных компонентов золу растений необходимо разбавлять в соотношении 1:100 графитовым порошком.

Правильность определения основных компонентов при выбранной степени разбавления доказана с помощью алгоритма - оценка контрольной процедуры для контроля точности (КПКТ) с применением образца для контроля (ОК) (РМГ 76-2014), результаты представлены в таблице 3 [35].

Полученные зольные остатки взвешивали, растирали в агатовой ступке до однородной порошкообразной смеси и разбавляли графитовым порошком последовательно в 10 и 100 раз. В качестве стандартных образцов использовали стандартные образцы состава графитового коллектора микропримесей СОГ-37 (ГСО 8487-2003) [64]. Навески проб и стандартных образцов массой 0,015 г помещали в кратер электрода, выступающего анодом, затем, для стабилизации условий возбуждения спектра, микродозатором вводили 20 мкл легкоионизируемого носителя – водно-спиртового раствора NaCl, содержащего 5 % масс. натрия. 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 – 0,002 м; время полной экспозиции – 20 с.

Для проведения анализа методами пламенной фотометрии (ПФ), атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС), абсорбционной спектрофотометрии (СФ) образцы переводились в раствор [65-67]. Для этого зольные остатки растворяли в (2-3) мл 20 % раствора хлороводородной кислоты при нагревании, затем

разбавляли в 2 раза водой бидистиллированной. Полученные растворы фильтровали через обеззоленный бумажный фильтр (АФА-ВП – 20) в мерные колбы объемом 25 мл и доводили до метки водой бидистиллированной.

Для проведения исследований по разработке новой спектральной методики использовали надземную часть репешка волосистого собранного в июле 2016 г. в смешанном лесу в окрестностях города Томска (в фазу цветения). После подготовки пробы золы растения и разбавления ее графитовым порошком в соотношении 1:100 был проведен анализ методом ДАЭС с использованием комплекса «Гранд», («ВМК-Оптоэлектроника», Россия) [68, 69]. Кроме того, был приготовлен раствор этого же образца для анализа методами ПФ, ААС, СФ. Калий определяли в растворах золы растений методами ДАЭС с МАЭС и ПФ, с использованием спектрометра Solaar (Thermoelectron, USA) [70]. Для определения Са, Mg, Zn использовали метод ААС. Оценку содержания фосфора проводили с помощью метода СФ (ОФС.1.2.3.0020.15 Спектрофотометрическое определение фосфора) с использованием спектрофотометра ПЭ-5400 УФ (ПромЭкоЛаб, Россия). Использование широкого круга аналитических методов обусловлено необходимостью проверки правильности проведения количественной оценки содержания элементов.

В результате качественного анализа установлено, что присутствующие в растениях элементы можно разделить на основные или доминирующие (К, Са, Mg, Р, Si, Na, Zn,) и характерные для вида или отражающие место сбора сырья (Al, В, Ва, Ве, Вi, Со, Сu, Сг, Fe, Mn, Мо, Ni, Pb, Sn, Sr, Ti, V, W, Zr и др.).

В таблице 9 представлены результаты количественного определения основных элементов в надземной части репешка волосистого методом ДАЭС с МАЭС и проверка правильности (t-критерий) их определения методами ААС, ПФ и СФ.

Таблица 9 - Содержание основных элементов в золе надземной части репешка волосистого ($P=0,95$, $n=5$, $t_{\text{табл.}}=2,78$)

Элемент	Содержание элементов в золе растения (мкг/г), найденное методами				$t_{\text{эксп}}$
	ДАЭС с МАЭС	ААС	ПФ	СФ	
К	$(1,91 \pm 0,31) \cdot 10^5$	–	$(1,85 \pm 0,24) \cdot 10^5$	–	1,67
Ca	$(4,2 \pm 0,5) \cdot 10^4$	$(3,91 \pm 0,32) \cdot 10^4$	–	–	2,16
Mg	$(2,26 \pm 0,33) \cdot 10^4$	$(2,56 \pm 0,34) \cdot 10^4$	–	–	2,21
P	$(1,56 \pm 0,25) \cdot 10^4$	–	–	$(1,73 \pm 0,31) \cdot 10^4$	2,32
Zn	$(1,92 \pm 0,31) \cdot 10^3$	$(1,77 \pm 0,17) \cdot 10^3$	–	–	1,93

Из таблицы 9 видно, что расхождение результатов, полученных методами ДАЭС с МАЭС, ААС, ПФ и СФ не значимо, и находится на уровне случайного разброса, что позволяет предположить возможность использования данных методов для анализа макрокомпонентов.

Анализ различных растений (мелисса, лобазник, ромашка) предоставленных Клиникой НИИ Фармакологии и регенеративной медицины Томский НИМЦ (рисунок 3) показал, что распределение матричных компонентов в образцах однотипно и зола объектов растительного происхождения состоит преимущественно из следующих элементов (в порядке убывания): $K > Ca > Mg > P > Zn$, причем содержание калия и кальция на порядок и более превосходит содержание других элементов. Следовательно, при проведении спектрального анализа необходимо учитывать возможность матричного влияния калия и кальция на определение микропримесей.

Несмотря на то, что данные закономерности распределения матричных элементов в золе объектов растительного происхождения, в наиболее общем виде известны, результаты эксперимента (рисунок 3) показывают, что их концентрации могут изменяться в широком интервале и поэтому учет и варьирование корректирующих добавок предусматривает предварительные исследования подобного рода. Графическое представление данной информации, помимо установления концентрационных зависимостей позволяет проследить закономерности распределения химических элементов для объектов растительного происхождения в зависимости от их положения в периодической

таблице Д.И.Менделеева и сделать соответствующие сопоставления с другими исследуемыми объектами с целью создания в будущем единой универсальной методики спектрального анализа.

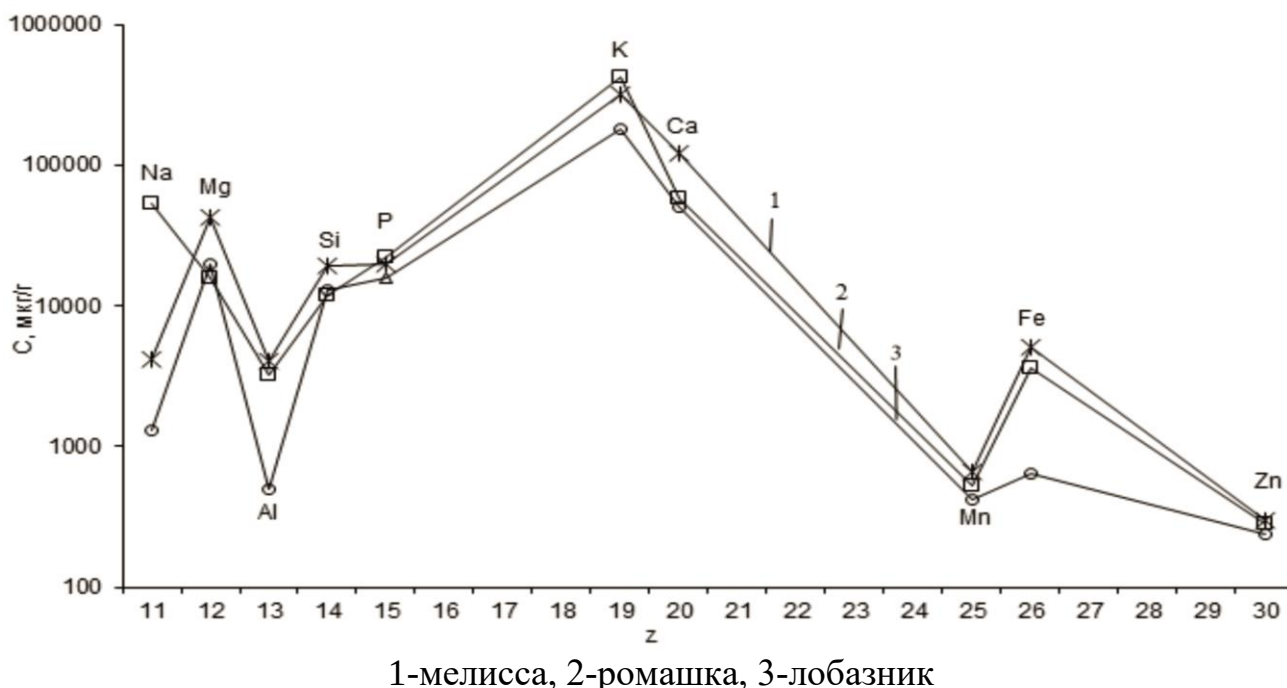


Рисунок 3 - Распределение макроэлементов в зольных остатках растений (зависимость концентрации от увеличения порядкового номера элементов в периодической таблице Д.И.Менделеева)

3.1.2 Определение молекулярного и фазового состава зольного остатка лекарственного растительного сырья

Для проведения достоверного анализа при определении микроэлементов методом ДАЭС с МАЭС объектов различного происхождения со сложными матрицами необходимо исследовать молекулярный и фазовый состав образца с целью правильного подбора способа пробоподготовки, степени разбавления, предварительной оценки матричного влияния и способа их учета.

С помощью метода ИК-спектроскопии с использованием Фурье спектрометра «Nicolet 6700» (Thermo Scientific, USA) установлен анионный состав золы репешка волосистого (рисунок 4). Для проведения анализа методом ИК-спектроскопии навеску золы образца помещали в агатовую ступку, смешивали с KBr до гомогенного состояния, затем используя прессовую установку фомировали таблетку, диаметром 2 мм. Спектр снимали в режиме «пропускание»,

количество сканирований – 32. Основная полоса пропускания лежит в области (1450-1410) см^{-1} (ν_1 – валентные колебания) и принадлежит карбонат-ионам CO_3^{2-} . Им также соответствуют полосы пропускания 878 см^{-1} и 712 см^{-1} (деформационные колебания). Полоса пропускания (1100-1000) см^{-1} (ν_3 – валентные колебания) принадлежит фосфат-ионам PO_4^{3-} . Таким образом, можно предположить, что зола растения состоит из карбонатов калия и кальция с примесями фосфатов. В этом же виде, предположительно, находятся и все остальные элементы [71-75].

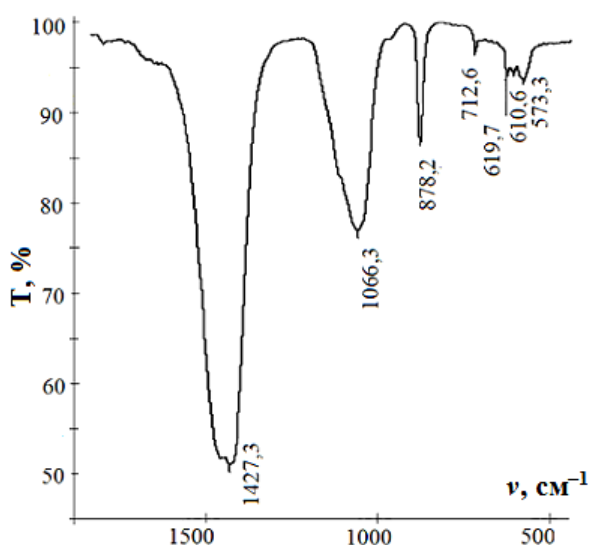


Рисунок 4 - ИК-спектр пропускания золы надземной части репешка волосистого

Дериватограмма (рисунок 5), полученная методом ДТА с использованием термоанализатора STA 409 PC Luxx (Netzsh Germany) путем нагревания образца зольного остатка до 1373 К позволила определить наличие карбонатов калия и кальция, однако, присутствие фосфат-ионов в образце не подтверждено, ввиду высоких температур разложения [76,77].

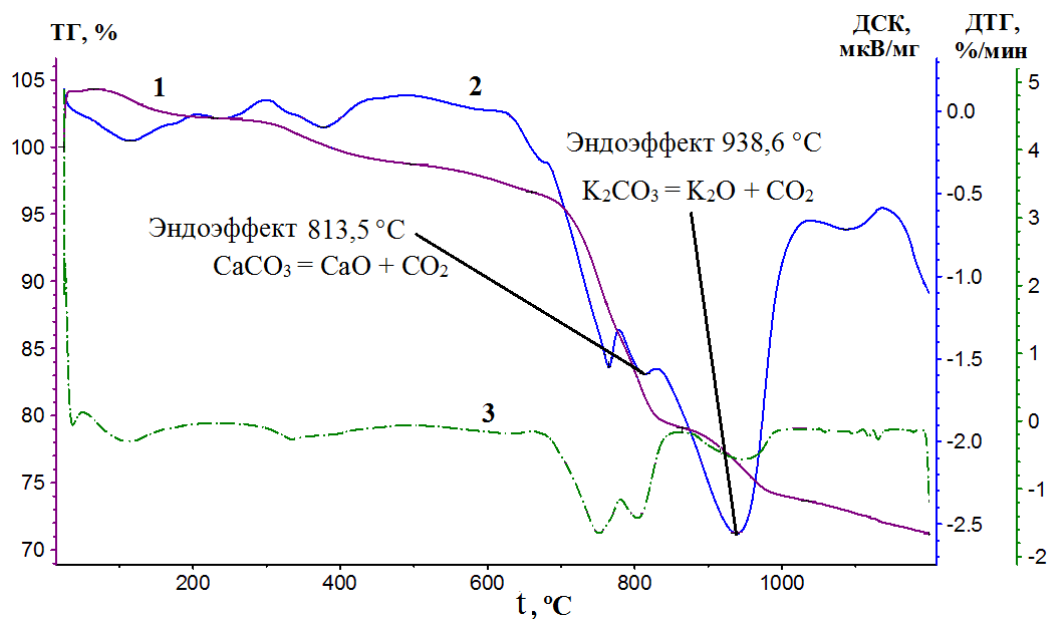
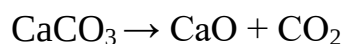


Рисунок 5 - Термогравиметрический анализ золы надземной части репешка
волосистого

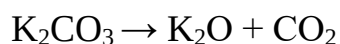
Анализ деривотограммы показал наличие следующих процессов:

1. $T=813,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (эндотермический эффект)



$T_p = 850\text{ }^{\circ}\text{C}$ (разложение)

2. $T=938,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (эндотермический эффект)



$T_p > 891\text{ }^{\circ}\text{C}$ (разложение)

Поскольку термогравиметрический анализ позволяет получать результаты на качественном уровне, и не исключено, что процессы разложения карбонатов K_2CO_3 и CaCO_3 могут накладываться, возникла необходимость провести рентгенофазовый анализ с использованием рентгеновского дифрактометра Rigaku «MiniFlex 600» (Rigaku Corporation, Japan) [78]. Рентгенофазовый анализ (рисунок 6), зольного остатка репешка волосистого также указывает на присутствие в образце карбонатов калия, карбонатов кальция с примесями фосфатов.

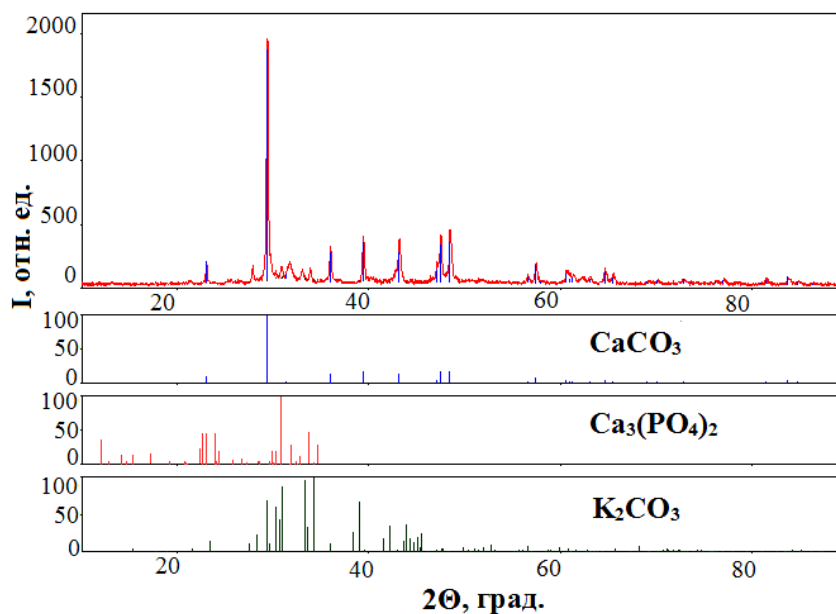


Рисунок 6 – Дифрактограмма зольного остатка репешка волосистого

Таким образом, на основании проведенных физико-химических исследований зольного остатка растения можно сделать вывод о том, что зола растений преимущественно состоит из карбонатов калия и кальция с примесями фосфатов и можно предположить, что остальные элементы находятся в той же форме. Это предположение позволяет рассмотреть возможные варианты учета и устранения матричного влияния при анализе объектов растительного происхождения методом АЭС с МАЭС, а именно:

- 1) увеличение значений погрешности/неопределенности с учетом матричных влияний;
- 2) введение буферных смесей (CsCl и $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$);
- 3) математическая коррекция (введение поправочных коэффициентов);
- 4) приведение стандартных образцов в соответствие анализируемым образцам путем введения фиксированного количества матричных компонентов;
- 5) количественное определение элементов проводят методом добавок.

На наш взгляд наиболее оптимальным способом учета матричных влияний в анализируемых в данной работе объектах является четвертый способ. Использование первого способа приведет к снижению достоверности получаемых

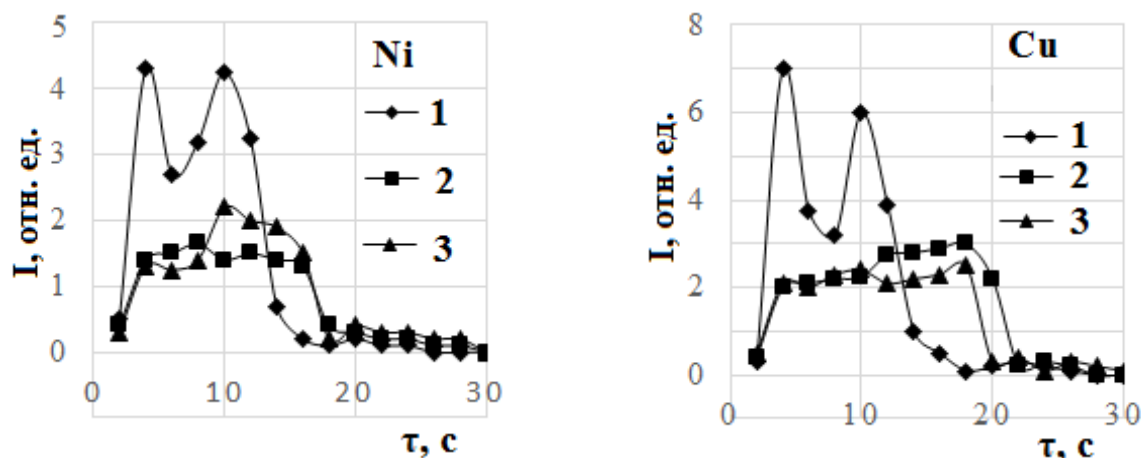
результатов, второй способ требует изменения аттестованных значений стандартных образцов, что приводит к трудности учета при проведении спектрального анализа, третий и пятый способы являются трудоемкими и требуют большого количества материала для статистической обработки полученных данных.

3.1.3 Исследование матричного влияния при проведении анализа методом ДАЭС с МАЭС зольного остатка лекарственного растительного сырья

Исследование влияния матричных компонентов на определение примесей и микропримесей проводили на модельных смесях, которые содержали одинаковое количество матричного компонента. Матричный компонент вводили путем добавки к графитовому порошку стандартного образца состава графитового коллектора микропримесей СОГ-37. Количество добавки соответствовало количеству матричного компонента в зольном остатке реальной пробы с учетом десятикратного разбавления.

В образец 2 добавляли карбонат калия (в пересчете на катион – 3 % масс.), а в образец 3 – карбонат кальция (в пересчете на катион – 0,5 % масс.). Рассчитанные количества добавки соответствуют содержанию указанных веществ в золе репешка волосистого, разбавленного графитовым порошком в 10 раз. Образец 1 являлся контрольным и не содержал добавки.

На рисунке 7, на примере никеля и меди (аналогично ведут себя и другие микроэлементы, входящие в состав растительного сырья), в виде кривых «испарения-возбуждения» представлена кинетика поступления атомов в зону разряда исследуемых проб.



1 - СОГ-37-2, 2 - СОГ-37-2 + K_2CO_3 ; 3 - СОГ-37-2 + $CaCO_3$

Рисунок 7 - Зависимость процессов «испарения-возбуждения» от состава пробы

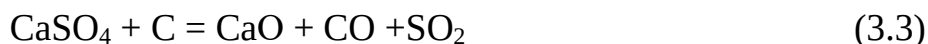
Из рисунка 7 видно, что кривые «испарения-возбуждения», полученные путем развертки спектра во времени, имеют сложный характер. В большинстве случаев процесс поступления атомов в зону разряда, описываемый этими кривыми, является ступенчатым, в особенности для проб, в которых макрокомпоненты отсутствуют. 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. С введением матричных компонентов кинетические максимумы уменьшаются и сглаживаются, что может быть обусловлено протеканием ионизации и высокотемпературных термохимических реакций элементов основы с графитом, входящим в состав пробы. Калий благодаря низкому потенциалу ионизации (4,1 эВ) понижает температуру плазмы дуги в результате эмиссии электронов в зону разряда:



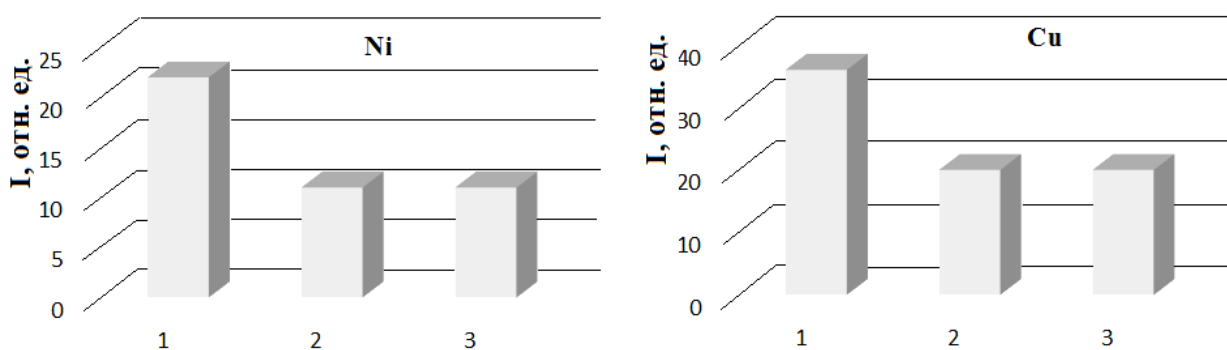
Снижение температуры приводит к уменьшению количества атомов, участвующих в формировании аналитических сигналов.

Кальций способен участвовать в протекании высокотемпературных термохимических реакций с графитом, входящим в состав пробы, с образованием тугоплавких соединений. Предположительно механизм образования

высокотемпературных форм, удерживающих элементы примеси в кратере электродов и занижающих аналитические сигналы примесей, можно описать с помощью следующих химических реакций:



Из вышесказанного следует, что в присутствии компонентов основы (K_2CO_3 и CaCO_3) аналитический сигнал контролируемых примесей уменьшается («матричный» эффект). Данный факт подтверждают зависимости накопления аналитического сигнала от состава пробы на примере никеля и меди (рисунок 8).



1 - СОГ-37-2, 2 - СОГ-37-2 + K_2CO_3 , 3 - СОГ-37-2 + CaCO_3

Рисунок 8 - Диаграммы накопления аналитического сигнала никеля и меди (экспозиция 20 с) в зависимости от состава пробы

Зная элементный и молекулярный состав зольных остатков объектов растительного происхождения, были приготовлены водно-спиртовые растворы (1:1), соответствующие содержанию основных соединений, входящих в состав зольных остатков. Расчеты представлены в таблице 10. Рассчитанное содержание компонентов вводили непосредственно в кратер графитового электрода микродозатором, объем капли составлял $0,01 \text{ см}^3$. Таким образом, при анализе объектов растительного происхождения в стандарты рекомендуется вводить 2 капли водно-спиртового раствора K_2CO_3 . В литературе описаны и другие варианты использования легкоионизирующих добавок, однако в данной работе

учитывался и «анионный эффект», который также может влиять на скорость парообразования.

Таблица 10 – Состав и объем корректирующего раствора, вводимого в электроды со СО при анализе объектов растительного происхождения

Объект исследования	Макро-элемент (М) ЗО	$\omega(M)$ в ЗО, разбавленном ГП, % масс.	Химическая форма М	Состав КР	$c(X)$ вещества в КР, моль/дм ³	Объем КР, вводимого в СО, см ³
Растения (надземные части)	К	3,0	K ₂ CO ₃	K ₂ CO ₃	0,29	0,02
Примечание: ЗО – зольный остаток, М – макроэлемент, СО – стандартный образец; КР – корректирующий раствор; ГП – графитовый порошок.						

Проверку предлагаемого способа устранения матричного влияния при определении примесных элементов проводили на стандартном образце листа березы ЛБ-1. В таблице 11 представлены результаты определения примесных элементов методом ДАЭС с МАЭС стандартного образца листа березы ЛБ-1.

Таблица 11 - Содержание примесных элементов в стандартном образце ЛБ-1 с учетом введения корректирующей добавки K₂CO₃ в стандартные образцы (P=0,95, n=10, t_{табл.} =2,28)

Элемент	Аттестованное значение, мкг/г	Найдено сухого стандартного образца ЛБ-1, мкг/г			
		Без добавки K ₂ CO ₃	t _{эксп}	С добавкой K ₂ CO ₃	t _{эксп}
Al	830	724 ± 150	2,88	910 ± 130	1,4
B	50	28 ± 4	12,6	57 ± 8	2,0
Ba	230	200 ± 25	2,74	250 ± 30	1,52
Be	0,050	0,027 ± 0,005	10,5	0,044 ± 0,006	2,21
Cd	0,16	0,24 ± 0,03	6,09	0,151 ± 0,021	1,14
Co	0,79	0,65 ± 0,09	3,55	0,72 ± 0,09	1,77
Cr	4,3	3,66 ± 0,32	5,32	4,5 ± 0,5	0,91
Cu	7,3	9,9 ± 1,3	4,57	7,8 ± 0,8	1,44
Fe	730	630 ± 150	1,52	790 ± 130	1,05
Mo	0,16	0,090 ± 0,023	4,57	0,160 ± 0,021	0,14
Mn	930	763 ± 110	4,78	990 ± 110	1,25
Ni	5,8	3,3 ± 0,4	6,27	6,3 ± 0,5	2,24

Окончание таблицы 11

Pb	3,7	$1,9 \pm 0,3$	2,85	$3,3 \pm 0,4$	2,22
Ti	59	34 ± 4	7,42	66 ± 8	1,99
V	2,1	$1,2 \pm 0,4$	2,85	$2,5 \pm 0,4$	2,26
W	0,3	$0,43 \pm 0,07$	1,63	$0,34 \pm 0,05$	1,83
Zr	5,5	$3,2 \pm 0,5$	6,40	$5,1 \pm 0,4$	2,20

Из таблицы 11 видно, что данный способ устранения матричного влияния достаточно эффективен, и может быть использован при проведении анализа объектов растительного происхождения методом ДАЭС с МАЭС для определения примесей и некоторых микропримесей.

3.1.4 Метрологическая аттестация методики анализа лекарственного растительного сырья методом ДАЭС с МАЭС

В результате проведённых исследований, с учетом матричных влияний основных компонентов на определение микропримесей в соответствии с нормативным документом РМГ 61-2010 [79] проведена предварительная метрологическая аттестация методики:

а) алгоритм оценки внутрилабораторной прецизионности:

Среднее значение результатов анализа, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности рассчитывают по формуле 3.5:

$$X_m = \frac{\sum_{l=1}^L X_{ml}}{L} \quad (3.5)$$

Расчет СКО результатов анализа, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности проводят по формуле 3.6:

$$S_{Rm} = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^L (X_{ml} - X_m)^2}{L-1} + \left(\frac{1}{n} - \frac{1}{N} \right) S_{rm}^2}, \quad (3.6)$$

где L – число неотброшенных результатов;

X_m – среднее арифметическое неотброшенных результатов;

n – число параллельных определений;

N – общее число результатов.

Показатель внутрилабораторной прецизионности методики анализа в виде СКО – $\sigma_{Rл, m}$ устанавливают, принимая равным СКО средних арифметических результатов анализа – $S_{R,m}$:

$$\sigma_{Rл, m} \approx S_{R,m} \quad (3.7)$$

б) алгоритм оценки показателя правильности методики:

Среднее значение результатов анализа, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности рассчитывают по формуле 3.5.

Расчет дисперсии, характеризующей разброс средних арифметических результатов единичного анализа $X_{m,l}$ относительно среднего значения результатов анализа X_m проводят по формуле 3.8:

$$S_m^2 = \frac{\sum_{l=1}^L (X_{ml} - X_m)^2}{L - 1} \quad (3.8)$$

Расчет значения смещения (формула 3.9):

$$\Theta_m = X_m - C_m, \quad (3.9)$$

где X_m – среднее значение результатов анализа,

C_m – аттестованное значение СО.

Затем проверяют значимость вычисленных значений Θ_m по критерию Стьюдента. Для этого рассчитывают значение t – критерия по формуле 3.10:

$$t_m = \frac{|\Theta_m|}{\sqrt{\frac{S_m^2}{L} + \frac{\Delta_{от}^2}{3}}} \quad (3.10)$$

где $\Delta_{от}$ – погрешность аттестованного значения.

При незначимости Θ или при принятом для методики анализа решении о введении в результаты анализа поправки, показатель правильности методики анализа рассчитывают по формуле 3.11:

$$\Delta_{см} = 1,96 \sqrt{\frac{S_m^2}{L} + \frac{\Delta_{от}^2}{3}} = 1,96 \sigma_{см} \quad (3.11)$$

Показатель точности методики анализа в условиях воспроизводимости или внутрилабораторной прецизионности для принятой вероятности $P=0,95$ рассчитывают по формуле 3.12:

$$\Delta_m = 1,96 \sqrt{\sigma_{Rm}^2 + \sigma_{cm}^2} = 1,96 \sigma_m(\Delta) \quad (3.12)$$

Показатели качества измерений методики элементного анализа в золе растений представлены в таблице 12.

Таблица 12 - Результаты предварительной метрологической аттестации методики определения макро- и микроэлементов в золе растений методами ДАЭС с МАЭС и ПФ ($n=5$; $P=0,95$)

Элемент	Диапазон, мкг/г	Δ_c , мкг/г	$\sigma_{Rл}$, мкг/г	$\Delta_{л}$, мкг/г	$\delta_{л}$, %
Al	100–1500	56	65	139	20
Ba	10–100	30	30	66	22
Ca	1000–20000	не значимо	1018	1995	13
Fe	100–1500	77	65	149	21
Mg	1500–7500	369	194	530	11
Mn	10–500	не значимо	86	168	19
P	1500–3000	113	115	252	15
Si	100–5000	362	241	595	20
B	10–70	не значимо	6,4	12,5	23
Cd	0,1–0,5	0,04	0,04	0,09	30
Co	0,05–1	0,14	0,06	0,18	26
Cr	0,5–5	0,3	0,41	0,86	28
Cu	1–30	1,1	0,6	1,6	23
Mo	0,1–1,0	0,04	0,04	0,09	30
Ni	3–7	1,0	0,5	1,4	27
Pb	0,1–5	0,5	0,3	0,8	27
Ti	10–100	8	5	12,6	25
V	0,05–1	0,5	0,3	0,8	27
W	0,1–0,5	0,04	0,04	0,09	30
Zn	80–130	не значимо	12	23	23
Zr	3–7	0,8	0,5	1,3	25

Окончание таблицы 12

K* (ПФ)	5000–50000	не значимо	995	1950	13
Na* (ПФ)	100–5000	не значимо	15	29	15
Li* (ПФ)	0,5–1,5	не значимо	0,1	0,2	20

Примечание: Δ_c , мкг/г – показатель правильности методики; $\sigma_{Rл}$, мкг/г – показатель внутрилабораторной прецизионности; Δ_l , мкг/г и δ_l , % – показатель точности методики и относительная погрешность измерений соответственно, * – содержание щелочных элементов определено ПФ.

3.2 Органы подопытных животных

3.2.1 Пробоподготовка внутренних органов подопытных животных

В работе, для разработки новой методики спектрального анализа органов подопытных животных проводилось исследование элементного состава внутренних органов и крови лабораторных крыс. Исследования проводили методом ДАЭС с использованием комплекса «Гранд», щелочные элементы, такие как Na, K определяли методом пламенной фотометрии с использованием атомно – абсорбционного спектрометра Thermo «Solaar серии S». Для анализа использовали реальные образцы тканей внутренних органов, такие как мозг, сердце, печень и почки, а также кровь крыс.

Для проведения анализа методом ДАЭС с МАЭС использовали образцы тканей, предварительно высушенные в сушильном шкафу при температуре (105 ± 5) °С. Высушенные образцы тканей взвешивали, переносили во фторопластовые ступки, тщательно растирали до гомогенного состояния и помещали в предварительно прокаленные кварцевые чашки. Кварцевые чашки с анализируемыми образцами помещали в холодную муфельную печь и проводили озоление при экспериментально подобранной температуре (450 ± 10) °С. Образцы выдерживали при этой температуре до постоянной массы. При проведении озоления образцов крови необходимо следить за цветом, он может быть буроватым, темно-красным. Серовато – грязный оттенок золы свидетельствует о неправильном озолении. Полученные зольные остатки взвешивали, растирали в агатовой ступке до однородной порошкообразной смеси и последовательно

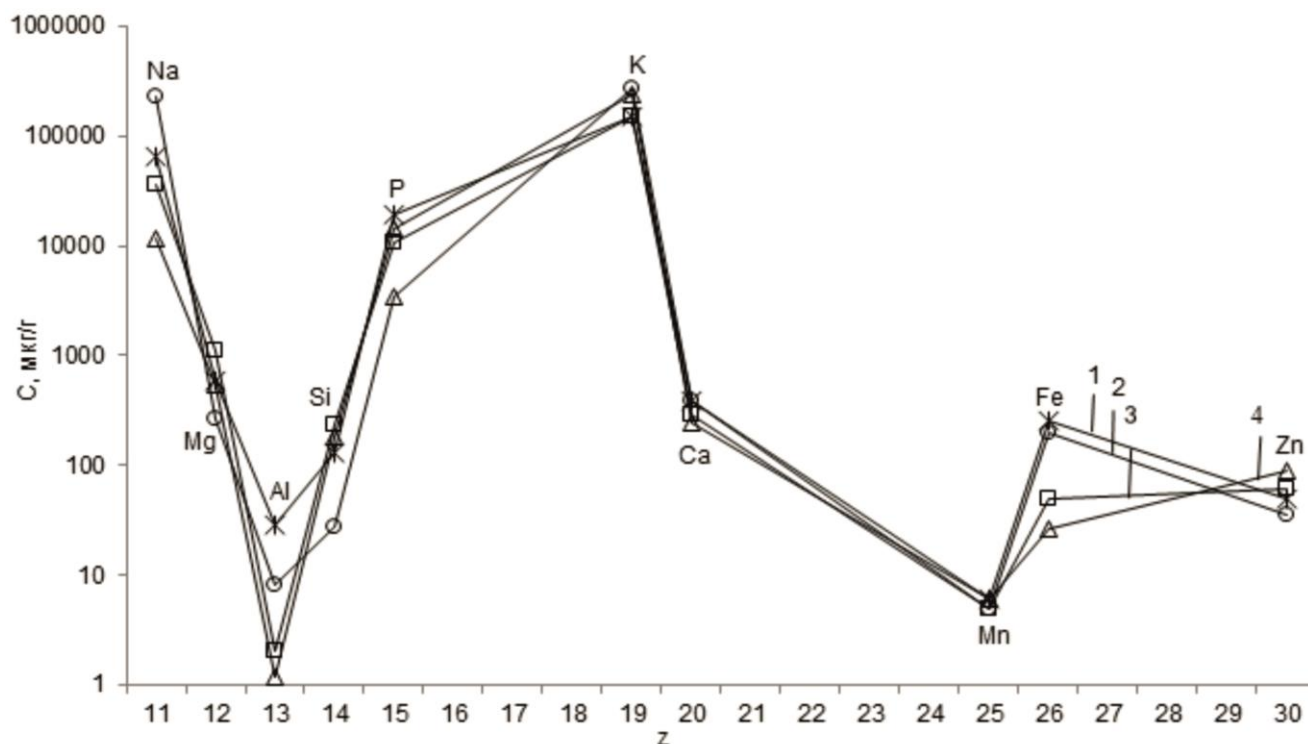
разбавляли графитовым порошком в соотношении 1:10, 1:100. Используемые стандартные образцы, аналогичны проведению анализа лекарственного растительного сырья (подпункт 3.1.1). Для проведения анализа методом ПФ зольные остатки органов подопытных животных переводили в раствор, растворяя их в 2 мл соляной кислоты ($C_m = 6 \text{ M}$), при нагревании на электрической плитке до 50°C . Полученные растворы фильтровали через фильтры («красная лента») в пробирки объемом 5 мл, затем доводили до метки деионизованной водой.

Для оценки содержания основных элементов проводили скрининговый анализ внутренних органов подопытных животных методами ДАЭС с МАЭС и ПФ. Результаты представлены в таблице 13 и на рисунке 9.

Таблица 13 - Содержание основных элементов (%*, мкг/г,) в золе тканей крыс, определенное методом ДАЭС с МАЭС (разбавление 1:100) и ПФ** ($n=5$, $P=0,95$)

Определяемый элемент/орган	K**	Na**	P	Mg	Ca
Мозг	$(13,5 \pm 1,2)^*$	$(6,0 \pm 0,5)^*$	$(1,0 \pm 0,9)^*$	480 ± 110	290 ± 60
Сердце	$(13,1 \pm 1,2)^*$	$(4,6 \pm 0,4)^*$	$(0,85 \pm 0,21)^*$	960 ± 190	190 ± 40
Кровь	$(24,6 \pm 2,0)^*$	$(20,0 \pm 2,2)^*$	$(0,20 \pm 0,06)^*$	200 ± 40	270 ± 60
Печень	$(20,7 \pm 2,5)^*$	$(2,32 \pm 0,30)^*$	$(1,26 \pm 0,21)^*$	900 ± 180	100 ± 20
Почки	$(20,3 \pm 2,5)^*$	$(10,7 \pm 1,1)^*$	$(1,07 \pm 0,32)^*$	450 ± 100	200 ± 40

Из таблицы 13 видно, что основными элементами в образцах являются $K > Na > P > Mg > Ca$, причем распределение матричных компонентов (рисунок 9) в различных органах однотипно. Содержание K и Na на порядок и более превышает содержание других элементов. Это говорит о том, что при определении регламентируемых примесей данные элементы будут оказывать значительное влияние на правильность проведения анализа. Кроме того, значительный матричный эффект может оказывать и анионный состав основных элементов.



1-мозг, 2-кровь, 3-сердце, 4-почки

Рисунок 9 - Распределение макроэлементов в зольных остатках органов крыс (зависимость концентрации от увеличения порядкового номера элементов в периодической таблице Д.И.Менделеева)

3.2.2. Определение молекулярного и фазового состава зольного остатка внутренних органов подопытных животных

С помощью метода ИК-спектроскопии с использованием Фурье спектрометра «Nicolet 6700» (Thermo Scientific, USA) определен анионный состав отобранных образцов тканей подопытных животных. Описание подготовки образцов для проведения анализа методом ИК-спектроскопии приведено в подпункте 3.1.2. Полученные спектры представлены на рисунках 10-14.

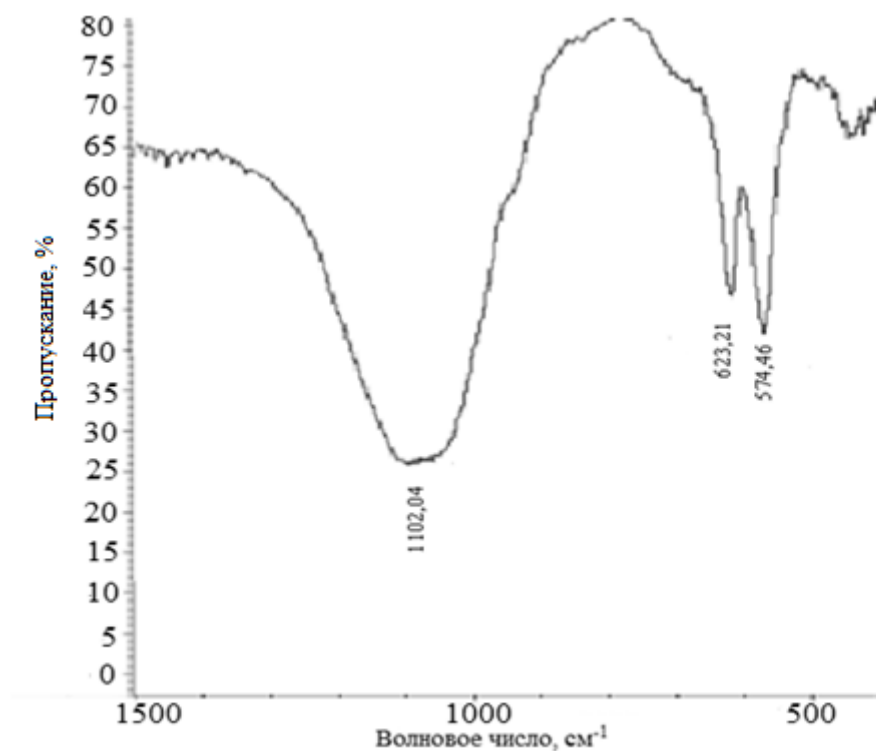


Рисунок 10 - ИК - спектр пропускания золы крови лабораторной крысы

Из инфракрасного спектра зольного остатка крови (рисунок 10) видно, что полосы пропускания 623 см^{-1} ($\nu_4(\text{F}_2)$ — деформационное антисимметричное колебание) и 1102 см^{-1} (ν_3 — валентное антисимметричное колебание) принадлежат сульфат-ионам SO_4^{2-} , а полоса 574 см^{-1} (ν_4 — валентное колебание) — фосфат-ионам PO_4^{3-} .

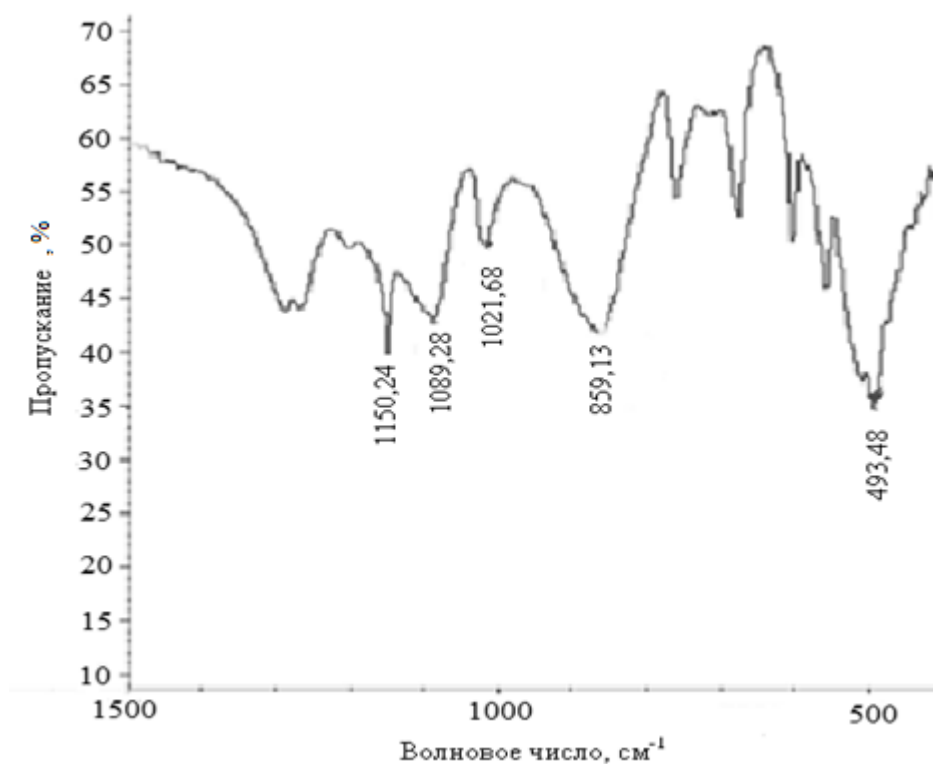


Рисунок 11 - ИК – спектр пропускания золы печени лабораторной крысы

Из ИК-спектра зольного остатка печени (рисунок 11) можно судить о наличии сульфат-ионов SO_4^{2-} (1150 см^{-1} - ν_3 – валентное антисимметричное колебание), карбонат-ионов CO_3^{2-} (полоса пропускания 859 см^{-1} – ν_2 – валентное колебание), а также фосфат-ионов PO_4^{3-} (полосы пропускания 1089 см^{-1} (ν_3 – валентное антисимметричное колебание), 1022 см^{-1} (ν_3 – валентное антисимметричное колебание), 493 см^{-1} (ν_4 – валентное колебание)).

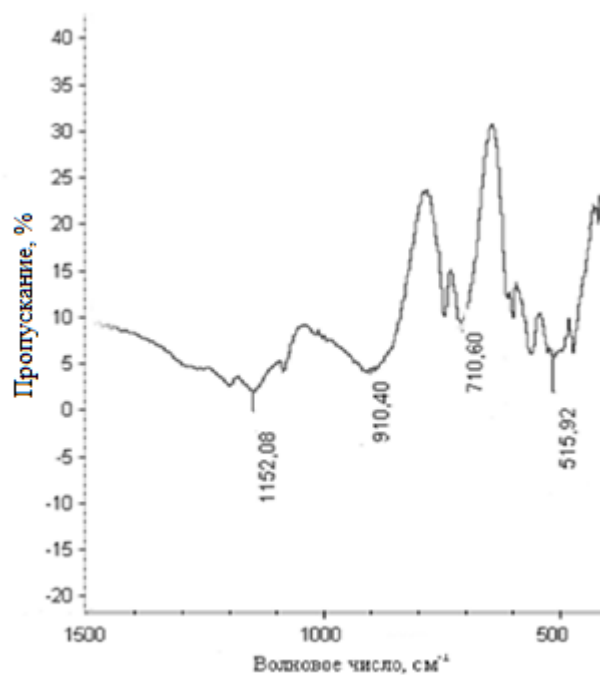


Рисунок 12 - ИК – спектр пропускания золы почек лабораторной крысы

Из инфракрасного спектра зольного остатка почек (рисунок 12) видно, что фосфат-ионам PO_4^{3-} принадлежат полосы пропускания 910 см^{-1} (ν_1 – валентное симметричное колебание) и 516 см^{-1} (ν_4 – валентное колебание). Полоса пропускания 1152 см^{-1} (ν_3 – валентное антисимметричное колебание) принадлежит сульфат-ионам SO_4^{2-} . Карбонат-ионам CO_3^{2-} соответствует полоса 710 см^{-1} (ν_2 -деформационное колебание).

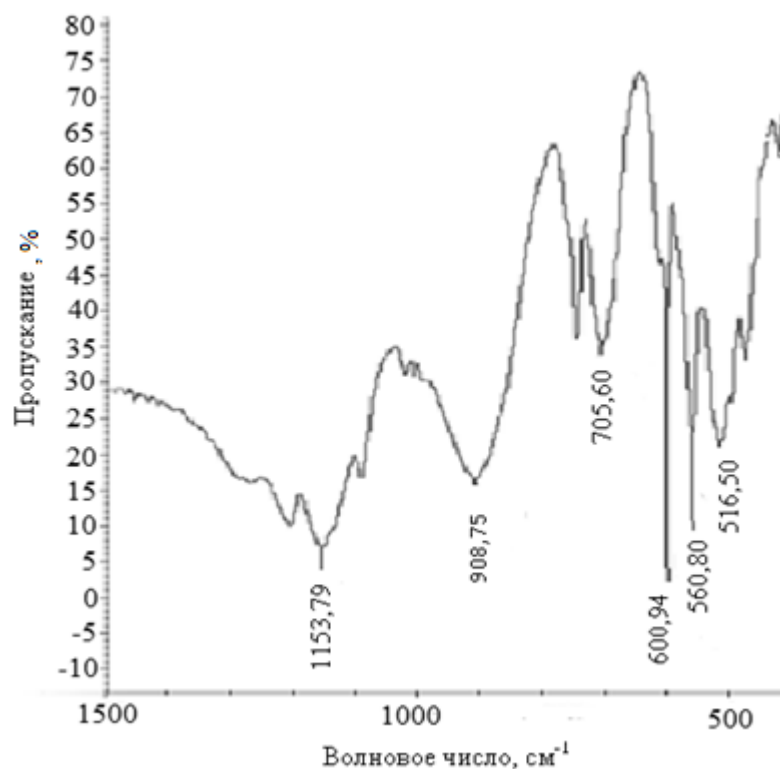


Рисунок 13 - ИК – спектр пропускания зола мозга лабораторной крысы

Из рисунка 13 можно сделать вывод о наличии в зольном остатке мозга фосфатов, сульфатов и карбонатов калия, так как полосы пропускания 1154 см^{-1} (ν_3 – валентное антисимметричное колебание) и 909 см^{-1} ($\nu_1(A_1)$ – валентное симметричное колебание) соответствуют сульфат-ионам SO_4^{2-} , полосы пропускания 601 см^{-1} , 560 см^{-1} , 516 см^{-1} (ν_4 – валентные колебания) — фосфат-ионам PO_4^{3-} , а 706 см^{-1} (ν_2 -деформационное колебание) — карбонат-ионам CO_3^{2-} .

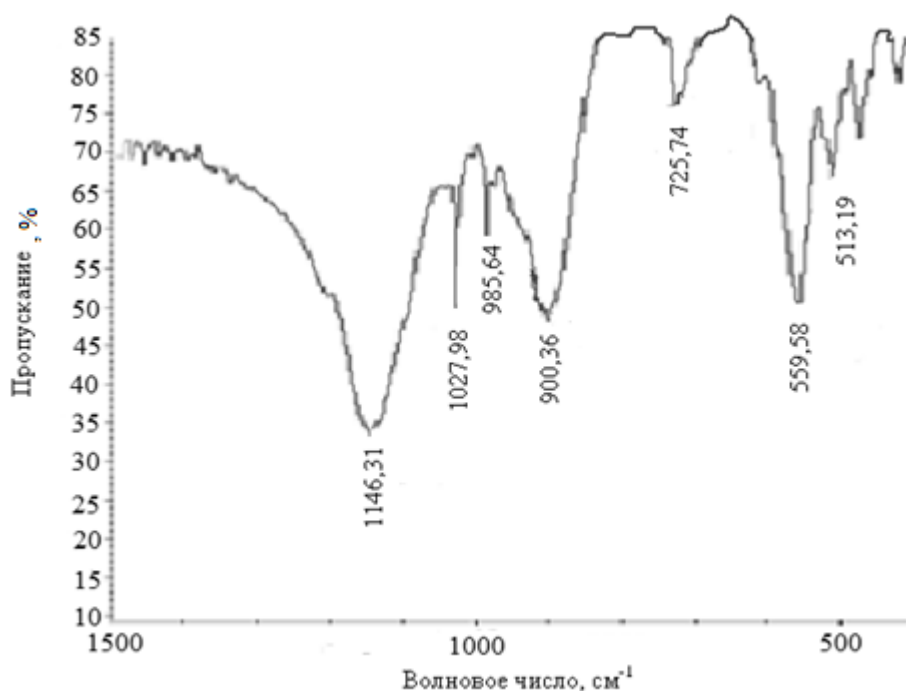


Рисунок 14 - ИК – спектр пропускания золы сердца лабораторной крысы

Из ИК-спектра зольного остатка сердца (рисунок 14) видно, что полосы пропускания 1146 см^{-1} (ν_3 – валентное антисимметричное колебание), 1028 см^{-1} (ν_3 – валентное антисимметричное колебание), 985 см^{-1} ($\nu_1(A_1)$ – валентное симметричное колебание) принадлежат сульфат-иону SO_4^{2-} , полосы пропускания 903 см^{-1} (ν_6 – валентное колебание) и 725 см^{-1} (ν_4 – деформационное колебание) принадлежат нитрат-ионам NO_3^- , а полосы 559 см^{-1} (ν_4 – валентное колебание) и 513 см^{-1} (ν_4 – валентное колебание) – фосфат-ионам PO_4^{3-} [71-75].

Результаты таблицы 12 и рисунков 10-14 можно представить в виде обобщенной модели распределения основных компонентов и примесей во внутренних органах крыс (рисунок 15).

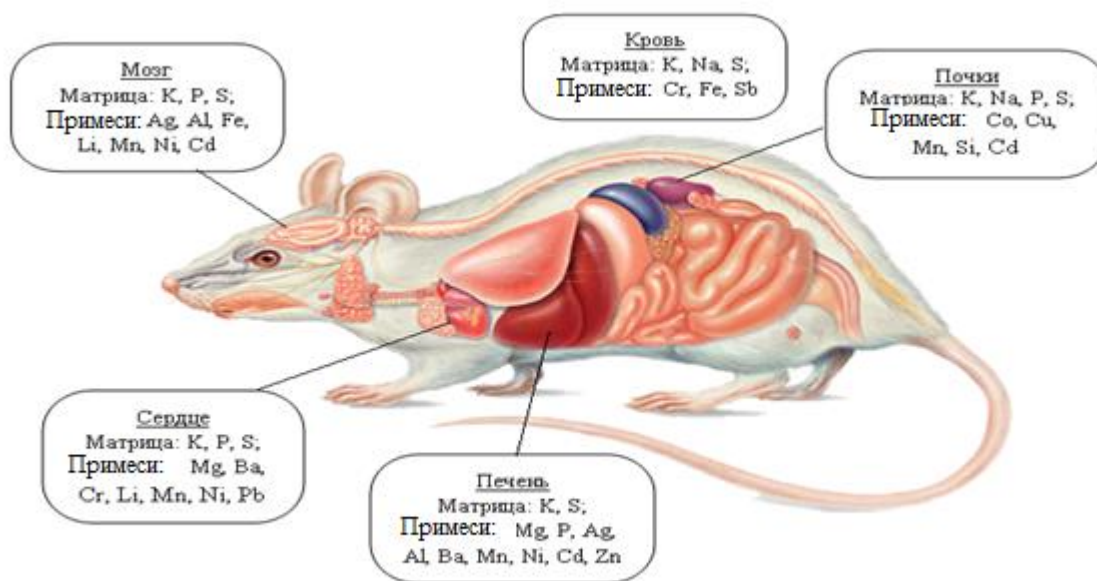


Рисунок 15 – Обобщенная модель распределения матричных и примесных элементов входящих в состав органов крыс

Таким образом, при проведении анализа методом ДАЭС с МАЭС для определения содержания примесных элементов необходимо учитывать матричное влияние для каждого определенного органа. Для этого необходимо провести расчеты концентрации по катиону матричного элемента в анализируемом образце и добавить в соответствии с анионной формой содержания катиона в стандартные образцы на графитовой основе. Количество катиона в анализируемом образце и стандартах на графитовой основе должно строго соответствовать. Так для анализа сердца, печени и мозга рекомендуется вводить K_2SO_4 , а для анализа почек и крови используется более сложная комбинация: корректирующая добавка представляет собой смесь корректирующих растворов – K_2SO_4 и Na_2SO_4 . Рассчитанное содержание компонентов в виде водно-спиртовых растворов (1:1) вводили непосредственно в кратер графитового электрода с помощью микродозатора, объем капли составлял $0,01 \text{ см}^3$. Расчеты по составу корректирующей добавки в электроды со стандартными образцами приведены в таблице 14.

Таблица 14 – Состав и объем корректирующего раствора, вводимого в электроды со СО при анализе органов подопытных животных

Ткани подопытных животных	Макро-элемент в зольном остатке (ЗО)	Массовая доля макроэлемента в ЗО, разбавленном ГП, % масс.	Химическая форма макро-элемента	Состав КР	$c(X)$ вещества в КР, моль/дм ³	Объем КР, вводимого в СО, см ³
Сердце, печень, мозг	К	2,5	K ₂ SO ₄	K ₂ SO ₄	0,24	0,02
Почки, кровь	К Na	2,5	K ₂ SO ₄ Na ₂ SO ₄	K ₂ SO ₄ Na ₂ SO ₄	0,24 0,41	0,02 0,02

Примечание: ЗО – зольный остаток, СО – стандартный образец; КР–корректирующий раствор; ГП – графитовый порошок.

Для проверки эффективности данного способа учета матричного влияния использовали стандартный образец состава ткани трески (MODAS-4 Cormorant Tissue, Польша). Предварительный анализ стандартного образца показал, что основа зольных остатков преимущественно состоит из карбоната калия, также присутствуют примеси сульфатов калия и натрия. На рисунке 16 представлен ИК-спектр поглощения стандартного образца состава ткани трески (MODAS-4 Cormorant Tissue, Польша).

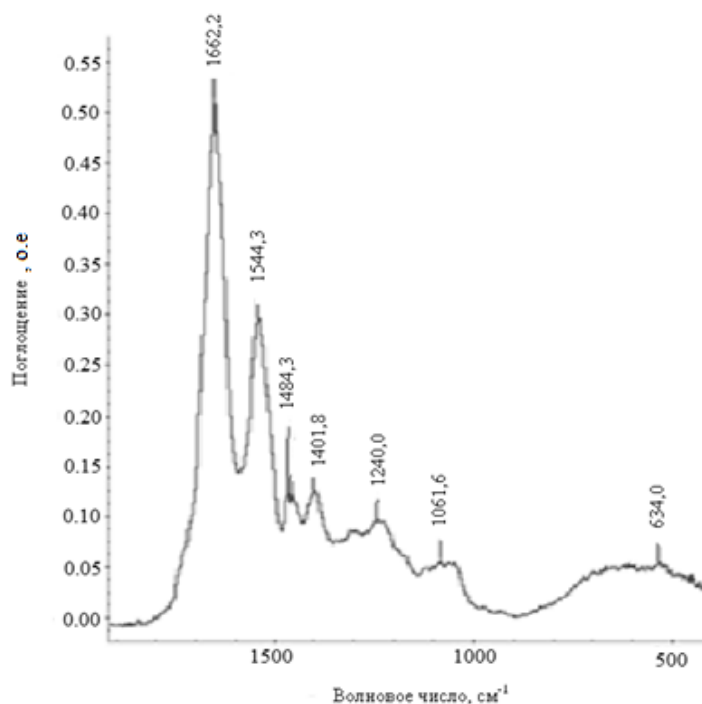


Рисунок 16 – ИК-спектр поглощения стандартного образца состава ткани трески (MODAS-4 Cormorant Tissue, Польша)

Из рисунка 16 видно, что основные полосы поглощения лежат в интервале (1600-1400) см^{-1} (ν_1 – валентные колебания) и принадлежат карбонат-ионам CO_3^{2-} . Небольшие перегибы в области (1250-1000) см^{-1} (ν_3 (F_2) – валентные антисимметричные колебания) принадлежат сульфат – ионам SO_4^{2-} . Также им принадлежит полоса поглощения 634,0 см^{-1} (ν_4 (F_2) – деформационные колебания) [71-75].

3.2.3 Метрологическая аттестация методики анализа внутренних органов подопытных животных методом ДАЭС с МАЭС

Для учета матричных влияний в стандартные образцы на графитовой основе вводился водно-спиртовой раствор карбоната калия в небольшом избытке в сравнении с содержанием его в стандартном образце состава ткани трески. Полученные результаты представлены в таблице 15. Из таблицы 15 видно, что корректирующая добавка существенно улучшает правильность проведения анализа. По критерию Стьюдента расхождение результатов не значимое на фоне случайного разброса.

Таблица 15 - Содержание микроэлементов в стандартном образце состава ткани трески MODAS-4 Cormorant Tissue с учетом введения корректирующей добавки K_2CO_3 в стандартные образцы ($P=0,95$, $n=10$, $t_{\text{таб.}}=2,28$)

Элемент	Аттестованное значение, мкг/г	Содержание без добавки K_2CO_3 мкг/г	$t_{\text{эксп}}$	Содержание с добавкой K_2CO_3 мкг/г	$t_{\text{эксп}}$
Ca	258	170±50	5,56	263±33	0,48
Zn	63,4	45±13	4,47	58±10	1,71
Cu	19,5	11±3	8,95	18±2	0,79
Rb	13,4	18±5	2,91	12±3	1,47
Pb	2,33	3,8±1,9	2,44	2,6±0,5	1,71
Mn	2,16	2,8±0,8	2,53	2,06±0,31	1,69
Co	0,041	0,08±0,04	3,08	0,051±0,022	1,42

В результате проведённых исследований, с учетом матричных влияний основных компонентов на определение микропримесей в соответствии с

нормативным документом РМГ 61-2010 [79] проведена предварительная метрологическая аттестация методики. Алгоритм расчета показателей качества методики представлены в подпункте 3.1.4. Результаты расчета представлены в таблице 16. Для основных компонентов, лежащих в диапазоне 1-2000 мкг/г, аттестацию проводили без учета матричных влияний, используя разбавление 1:100, при концентрации примесей меньше 1 мкг/г использовали разбавление 1:10, и для учета матричных влияний, в этом случае, в стандартные образцы вводили K_2SO_4 в строгом соответствии по входящему в рабочую пробу катиону и преобладающему для большинства анализируемых объектов аниону SO_4^{2-} .

Таблица 16 - Результаты предварительной метрологической аттестации методики определения макро- и микроэлементов в тканях органов подопытных крыс методами ДАЭС с МАЭС и ПФ** ($n=5$, $P=0,95$)

Элемент	Диапазон, мкг/г	Δ_c , мкг/г	σ_{RL} , мкг/г	Δ_l , мкг/г	δ_l , %
Al	500–1000	88	55	139	20
Ba	100–500	32	30	67	22
Ca	1000–2000	не значимо	995	1950	13
Fe	500–1000	98	49	137	20
Mg	2500–7500	515	207	656	12
Mn	600–1200	не значимо	87	171	19
P	1500–2000	175	98	260	15
Si	100–5000	430	200	582	19
B	30–70	не значимо	6	12	23
Cd	0,1–0,5	0,04	0,04	0,09	30
Co	0,5-1	0,15	0,05	0,18	26
Cr	1–5	0,5	0,3	0,8	27
Cu	5–10	1,7	0,2	1,7	24
Mo	0,1–0,5	0,04	0,04	0,09	30
Ni	3–7	1,0	0,5	1,4	28
Pb	1–5	0,5	0,3	0,8	27
Ti	30–70	5	5	11	22
V	1–5	0,5	0,3	0,8	27
W	0,1–0,5	0,04	0,04	0,09	30

Окончание таблицы 16

Zn	80–130	не значимо	12	23	23
Zr	3–7	1,0	0,5	1,4	27
K* (ПФ)	5000–20000	не значимо	995	1950	13
Na* (ПФ)	150–250	не значимо	15	30	15
Li* (ПФ)	0,1–1,5	не значимо	0,1	0,2	20
Примечание: Δ_c , мкг/г – показатель правильности методики; σ_{RL} , мкг/г – показатель внутрिलाбораторной прецизионности; Δ_L , мкг/г и δ_L , % – показатель точности и относительная погрешность измерений соответственно. * – содержание щелочных элементов определено ПФ.					

3.3 Исследование матричного влияния, пробоподготовка образцов, разработка и предварительная аттестация методики анализа методом ДАЭС с МАЭС отдельных особей клещей

Для изучения элементного состава особей клещей, образцы были предоставлены сотрудниками биологического института Томского государственного университета. Предоставленные образцы клещей были собраны в различных районах города Томска. Их элементный состав определяли методом дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии с многоканальным анализатором эмиссионных спектров (ДАЭС с МАЭС) с использованием спектроаналитического комплекса «Гранд» [80,81]. Для оценки возможности метода ДАЭС в части чувствительности при анализе особей клещей был спланирован специальный эксперимент. В кратер угольного электрода вводили навеску угольного порошка массой 0,008 г, на которую помещали одну особь клеща. Далее по процедуре пробоподготовки проводили обугливание пробы одной каплей концентрированной серной кислоты с последующим введением второй навески угольного порошка массой 0,007 г, которая полностью накрывала исследуемый объект. Графитовый электрод с пробой прокаливали при температуре $(450 \pm 10)^\circ\text{C}$ в течение одного часа. Суммарная масса угольного порошка в электроде (коллектор контролируемых элементов) соответствовала массе стандартных образцов (СОГ-37) [64], используемых для построения градуировочных графиков. Условия проведения анализа методом ДАЭС с МАЭС,

описаны выше (подпункт 3.1.1). В таблице 17 приведены результаты полуколичественного определения элементов в одной особи клеща и в двух клещевых особях.

Таблица 17 - Элементный полуколичественный состав отдельных особей клещей, установленный методом ДАЭС с МАЭС (малый скрининг)

Элемент	Содержание в клеще, мкг/г	
	1 клещевая особь	2 клещевые особи
Фосфор (P)	9300	13300
Натрий (Na)	4200	6400
Кальций (Ca)	3200	5100
Калий (K)	2500	4500
Магний (Mg)	700	800
Железо (Fe)	600	1700
Кремний (Si)	300	1200
Алюминий (Al)	150	680
Цинк (Zn)	100	400
Никель (Ni)	27	33
Медь (Cu)	16	26
Марганец (Mn)	6,4	27
Титан (Ti)	50	90
Барий (Ba)	2,0	6,3
Олово (Sn)	1,6	4,7
Кадмий (Cd)	1,1	2,6
Кобальт (Co)	0,9	1,2

Из таблицы 17 видно, что чувствительности метода ДАЭС с МАЭС достаточно для определения присутствия 17-ти элементов, 4 из которых являются макрокомпонентами (P > Na > Ca > K). Таким образом, метод ДАЭС с МАЭС позволяет определять элементный состав отдельных особей клещей при их индивидуальном рассмотрении.

Для максимально полного соответствия анализируемых проб стандартным образцам на основе угольного порошка СОГ-37 [64] по содержанию и химической форме макроэлементов проведено исследование анионного состава зольного

остатка клещей. Исследование проводили методом ИК-спектроскопии с применением Фурье спектрометра «Nicolet 6700» (Thermo Scientific, USA). ИК-спектр поглощения образца зольного остатка клещей представлен на рисунке 17.

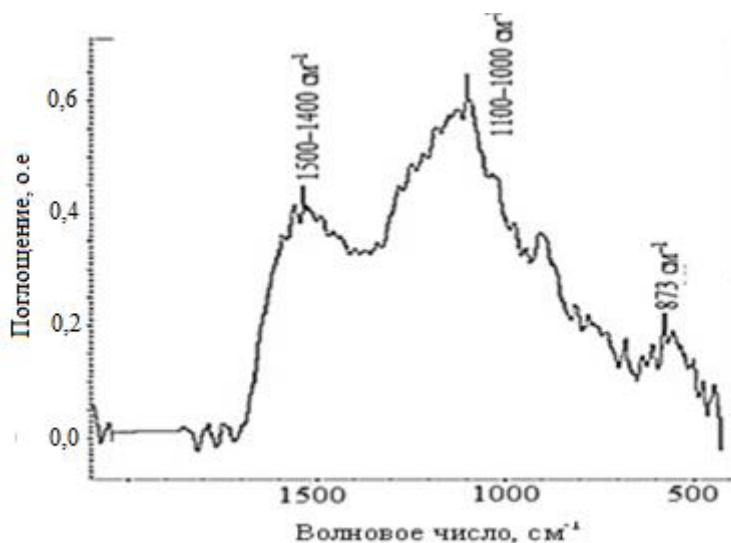


Рисунок 17 - ИК-спектр поглощения зольного остатка образца клещей

На ИК-спектре поглощения (рисунок 17) видно, что основная полоса поглощения, лежащая в области $(1100-1000) \text{ см}^{-1}$, принадлежит фосфат-ионам – PO_4^{3-} (ν_1 – деформационные колебания). Полосы поглощения $(1500-1400) \text{ см}^{-1}$ (ν_1 – валентные колебания) и 873 см^{-1} принадлежат карбонат-ионам – CO_3^{2-} [71-75]. На основании исследования катионного и анионного состава зольного остатка клещей следует предположить, что он представлен главным образом фосфатами и карбонатами натрия, калия и кальция, что необходимо учитывать при определении микропримесей на стадии пробоподготовки и аттестации методики.

Таким образом, для учета матричных влияний при концентрации менее 1 мкг/г при разбавлении 1:10, вводили добавку в стандартные образцы в виде преобладающих в зольном остатке солей – Na_3PO_4 , для определения основных компонентов с более высокими концентрациями введение корректирующей добавки не проводилось, ввиду отсутствия матричных влияний при используемом разбавлении 1:100.

Метрологическую аттестацию предлагаемой методики анализа клещей для определения количества макро- и микроэлементов проводили по алгоритму «метод оценки показателей качества методики анализа с применением метода

варьирования навески» РМГ 61-2010 [79]. Алгоритм используется в случае отсутствия стандартных образцов, образцами для оценивания могут выступать рабочие пробы вещества.

Алгоритм расчета показателей качества с использованием метода варьирования навески:

1. Рассчитывают СКО, характеризующее случайный разброс результатов анализа пробы и «пробы, с измененной навеской» по формулам 3.13 и 3.14:

$$S_1 = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^L (x_l - \bar{x})^2}{L-1}} \quad (3.13)$$

$$S_2 = \sqrt{\frac{\sum_{l=1}^L (x'_l - \bar{x}')^2}{L-1}} \quad (3.14)$$

2. Проводят расчет значения t-критерия по формуле 3.15:

$$t = \frac{|\Theta|}{\sqrt{\frac{S_1^2}{L} + \frac{S_2^2}{L}}}, \quad (3.15)$$

где $|\Theta|$ - значение смещения, $\Theta = \bar{x} - \bar{x}'$.

3. При незначимости Θ или при принятом решении о введении в результаты анализа поправки показатель правильности методики анализа рассчитывают по формуле 3.16:

$$\Delta_c = 1,96 \sqrt{\frac{S_1^2}{L} + \frac{S_2^2}{L}} = 1,96 \sigma(\Delta_c) = 1,96 \sigma_c \quad (3.16)$$

4. Показатель точности методики анализа рассчитывают по формуле 3.17:

$$\Delta_\sigma = |\Delta_n| = \Delta = 1,96 \sqrt{\sigma_R^2 + \sigma_c^2} = 1,96 \sigma(\Delta), \quad (3.17)$$

где σ_R – показатель воспроизводимости методики;

σ_c – показатель правильности методики.

С целью расчета показателей качества измерений и проведения предварительной аттестации методики элементного количественного химического анализа число одновременно анализируемых особей клещей было увеличено до 10 штук. В соответствие с этим, масса угольного порошка, являющегося коллектором их зольного остатка, была так же увеличена в 10 раз (0,1500 г). В чистую предварительно прокаленную до постоянной массы

кварцевую чашку помещали 0,075 г угольного порошка, на поверхности которого равномерно размещали 10 особей клещей общей массой 0,0329 г. Предварительное обугливание проводили с помощью нескольких капель концентрированной серной кислоты (ос. ч). Далее образцы высушивали под ИК-лампой при температуре $(100 \pm 5)^\circ\text{C}$ и добавляли еще 0,0750 г угольного порошка, так что общая его масса без учета массы клещей составляла 0,1500 г. Полученную смесь озоляли в муфельной печи при температуре $(450 \pm 10)^\circ\text{C}$ до постоянной массы. После озоления масса полученного минерализата составила (145 ± 5) мг. Это указывало на то, что органическая составляющая клещей полностью минерализована, а неорганическая равномерно распределилась в графитовой матрице. Уменьшение массы минерализата обусловлено потерями, которые полностью устранить при осуществлении процедуры пробоподготовки невозможно, но они учтены при расчетах показателей качества измерений. После озоления, смесь тщательно перемешивали до гомогенного состояния. Далее отбирали 5 навесок по 0,0150 г, помещали в графитовые электроды и проводили регистрацию спектров в условиях, указанных выше. Результаты параллельных определений, полученные в условиях внутрилабораторной прецизионности, представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Содержание элементов в клещах (мкг/г), установленные методом ДАЭС с МАЭС минерального остатка в условиях внутрилабораторной прецизионности

Элемент	Содержание элемента в клещах, мкг/г					
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	$\bar{X}$
P	2631	2954	2951	2977	3137	2931
Ca	1731	1734	1877	1731	2023	1821
Mg	281	317	358	398	423	355
Fe	411	464	485	541	558	491
Si	277	315	317	337	388	320
Al	285	305	318	332	387	325
Zn	245	268	285	312	346	291
Ni	19,6	20,0	20,6	21,1	22,6	20,8

Окончание таблицы 18

Cu	16,3	14,5	16,4	15,4	16,3	15,7
Mn	9,7	10,8	11,3	12,7	13,1	11,5
Ti	155	162	183	206	226	188
Ba	4,5	4,6	4,7	5,0	6,5	5,0
Sn	0,78	0,77	0,81	0,84	0,85	0,81
Cd	0,92	0,97	1,03	1,18	1,31	1,12

Из оставшейся пробы брали навеску массой 0,0500 г, добавляли к ней 0,0250 г угольного порошка, что соответствовало ее 1,5-кратному разбавлению, и снова гомогенизировали. Затем так же, как и в предыдущем опыте, пять навесок по 0,0150 г помещали в кратер графитовых электродов и осуществляли регистрацию спектров. Результаты параллельных определений, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности, представлены в таблице 19. Параллельно по всей процедуре пробоподготовки проводили контрольный опыт. Таблица 19 – Содержание элементов в клещах (мкг/г), установленные методом ДАЭС с МАЭС разбавленного в 1,5 раза минерального остатка в условиях внутрилабораторной прецизионности

Элемент	Содержание элемента в клещах, мкг/г					
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	$\bar{X}$
P	2448	2625	2916	3093	3327	2883
Ca	1832	1942	2378	1558	1777	1898
Mg	323	338	376	381	418	368
Fe	435	444	528	528	577	504
Si	274	281	326	354	376	323
Al	292	303	313	322	342	314
Zn	256	285	308	313	332	297
Ni	16,6	19,4	21,3	23,4	24,4	21,1
Cu	14,8	15,7	15,7	15,4	15,7	15,6
Mn	10,3	11,3	12,5	13,4	13,7	12,3
Ti	155	168	178	187	215	180
Ba	5,06	5,55	5,92	6,73	7,13	6,11
Sn	0,72	0,74	0,78	0,82	0,84	0,81
Cd	0,94	1,17	1,37	1,41	1,52	1,31

Расчет показателей качества измерений проводили по формулам 3.13 - 3.17 в соответствии с требованиями РМГ 61-2010 [79]. На основании проведенных расчетов составлена таблица показателей качества измерений и установлены соответствующие диапазоны для проведения спектрального анализа (таблица 20). Таблица 20 - Результаты предварительной метрологической аттестации методики определения макро- и микроэлементов в клещах методом ДАЭС с МАЭС с использованием корректирующей добавки – Na_3PO_4 ($n=5$, $P=0,95$).

№	Элемент	Диапазон измерений, мкг/г	Δ_c , мкг/г	$\sigma_{\text{РЛ}}$, мкг/г	$\Delta_{\text{л}}$, мкг/г	$\delta_{\text{л}}$, %
Эссенциальные жизненно важные химические элементы						
P		2500-3500	191	241	510	17
Ca		1500-2500	210	173	400	20
Al		300-400	43	34	80	23
Mg		300-500	42	42	92	23
Fe		400-600	62	49	115	23
Si		270-400	40	34	77	23
Zn		200-400	35	32	72	24
Ti		100-200	14	18	38	25
Токсичные, потенциально токсичные и условно эссенциальные химические элементы						
Ni		10-20	1,5	1,9	4	27
Cu		10-20	1,6	1,9	4	27
Ba		1-10	0,5	0,7	1,5	30
Mn		10-20	2	1,8	4	27
Cd		1-5	0,3	0,4	0,8	30
Co		0,5-2,0	0,15	0,19	0,4	32
Sn		0,5-2,0	0,17	0,18	0,4	32
Примечание: Δ_c , мкг/г – показатель правильности методики; $\sigma_{\text{РЛ}}$, мкг/г – показатель внутрилабораторной прецизионности методики; $\Delta_{\text{л}}$, мкг/г и $\delta_{\text{л}}$, % – показатель точности и относительная погрешность измерений соответственно.						

Вывод к главе 3

На основании проведенных физико-химических исследований установлены и подробно изучены матричные влияния при определении примесей и

микропримесей изучаемых объектов методом атомной спектроскопии. Показано, что учет матричных влияний целесообразно проводить при концентрации примесей ниже $(1 \pm 0,1)$ мкг/г, при разбавлении пробы 1:10. Изученные закономерности положены в основу разработки методик выполнения измерений.

Глава 4 Применение метода ИСП-МС для определения примесей и микропримесей в исследуемых объектах

Для проведения анализа методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой анализируемые объекты предварительно были переведены в раствор. При анализе водных растворов с применением квадрупольных масс-спектрометров пределы обнаружения элементов достигают (0,01-0,1) нг/л. Однако, достичь на практике таких низких пределов обнаружения получается не всегда, связано это с ограничениями метода масс-спектрометрии в виде матричного эффекта и полиатомных интерференций. Кроме того, перевод анализируемых образцов в раствор, с одной стороны, приводит к существенному разбавлению образца, что негативно сказывается на пределах обнаружения. С другой стороны, стадия пробоподготовки является основным источником погрешности при определении элементов за счет неконтролируемых загрязнений из лабораторной посуды, реактивов, воздуха и т.д [82].

4.1 Неспектральное матричное влияние

Неспектральное матричное влияние в методе масс-спектрометрии – это уменьшение сигнала ионов определяемого элемента с увеличением концентрации матричных элементов. В таблице 21 представлены матричные элементы анализируемых объектов, предварительно определенные методом ДАЭС с МАЭС.

Таблица 21 – Основные и примесные элементы анализируемых образцов

Анализируемый объект	Элемент
Объекты растительного происхождения	K~Ca>Mg>Mn>Fe~Si~Al
Клеши	Ca>Al~Mg~Fe>Si~Zn>Ti

Из таблицы 21 видно, что матричными элементами в анализируемых образцах являются относительно «легкие» (с массой менее 80) элементы по массе. На рисунке 17 представлены кривые чувствительности масс-спектрометра (т.е. чувствительность прибора в диапазоне масс от ${}^6\text{Li}$ до ${}^{238}\text{U}$) в зависимости от содержания кальция и калия в анализируемом растворе.

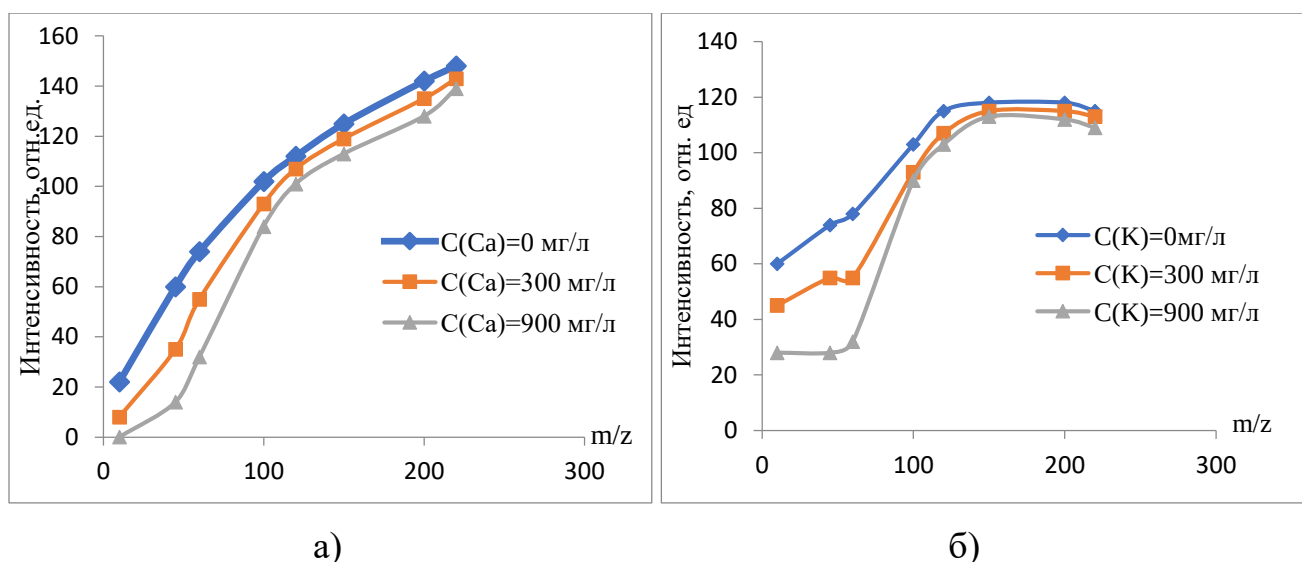


Рисунок 18 – Зависимость формы кривой чувствительности масс-спектрометра от содержания кальция (а) и калия (б)

Из рисунка 18 видно, что при определении «легких» изотопов увеличение концентрации таких элементов как кальций и калий в анализируемом образце оказывает существенное влияние на чувствительность масс-спектрометра. При определении «тяжелых» изотопов эффект проявляется в меньшей степени. Это говорит о том, что величина матричного эффекта зависит не только от количества матричного элемента в анализируемом образце, но и от атомного номера определяемого элемента. Это приводит к увеличению плотности объемного заряда и увеличению рассеивания всех ионов на нем. Причем легкие элементы рассеиваются эффективнее, чем тяжелые, и чем тяжелее матричный элемент, тем в большей степени увеличивается плотность объемного заряда и тем в большей степени происходит рассеивание элементов [83-85].

Из вышесказанного можно сделать вывод о том, что при определении «легких» по массе элементов в образцах с представленной матрицей, необходимо учитывать данный вид матричного влияния.

4.2 Спектральное матричное влияние

Учитывая результаты ДАЭС с МАЭС по определению матричных компонентов анализируемых образцов и данные таблицы 2 (подпункт 1.2.2) - возможные полиатомные интерференции в методе ИСП-МС, можно сделать

вывод о том, что основные полиатомные интерференции, включающие в себя матричные элементы, приходится на «легкие» элементы. Интерференции на элементы со «средними» и «тяжелыми» массами имеют незначительный вклад, так как в их состав не входят матричные компоненты. Поэтому для получения достоверных результатов при анализе элементов со «средними» и «тяжелыми» массами достаточно настройки оптимального уровня чувствительности используемого оборудования, тщательное проведение подготовки образцов к анализу, использование особо чистых реактивов, правильный выбор коэффициента разбавления.

4.3 Оптимизация условий проведения анализа. Оценка эффективности работы спектральной плазмы

Для получения достоверных результатов при анализе различных объектов методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой необходимо проводить настройку оптимального уровня чувствительности каждый раз перед съемкой, кроме того, в работах [84-86] указано, что для каждой конкретной модели оборудования существуют свои собственные настройки, позволяющие минимизировать влияние сопутствующих элементов («устойчивые» параметры). Настройку прибора и оптимизацию инструментальных параметров для получения максимального и хорошо воспроизводимого аналитического сигнала проводили по стандартному многоэлементному настроечному раствору (Tuning Solution, производство Agilent Technologies, США) содержащего по 1 мкг/л Li, Mg, Y, Ce, Tl и Co.

Для получения хорошо воспроизводимого аналитического сигнала проводили настройку масс-спектрометра по следующим параметрам: мощность генератора, скорость потока газа-носителя и поддувочного газа, положение горелки относительно конусов.

Уменьшению доли оксидных ионов MeO^+ (в том числе и оксидов аналита), увеличению степени ионизации трудноионизируемых элементов, повышению числа двухзарядных ионов способствует увеличение мощности за счет

увеличения температуры плазмы [87]. Мощность генератора после оптимизации была установлена постоянной, газовый поток оптимизировали перед каждой съемкой.

Кроме того, скорость перильстатического насоса и расстояние от горелки до отбирающего конуса оказывают существенное влияние на чувствительность прибора. Количество двухзарядных и оксидных ионов являются показателями эффективности работы плазмы. Контролируются они по отношениям $\text{Ce}^{2+}/\text{Ce}^{+}$ и CeO/Ce соответственно. Отношение CeO/Ce определяет эффективность, с которой плазма расщепляет прочную связь $\text{Ce}-\text{O}$ и служит индикатором для других матричных оксидных интерференций. При этом стоит обращать внимание на то, что оптимальными считаются параметры, совмещающие высокую чувствительность и низкие значения количества двухзарядных и оксидных ионов. На рисунках 19-23 представлено влияние основных инструментальных параметров работы плазмы на чувствительность прибора.

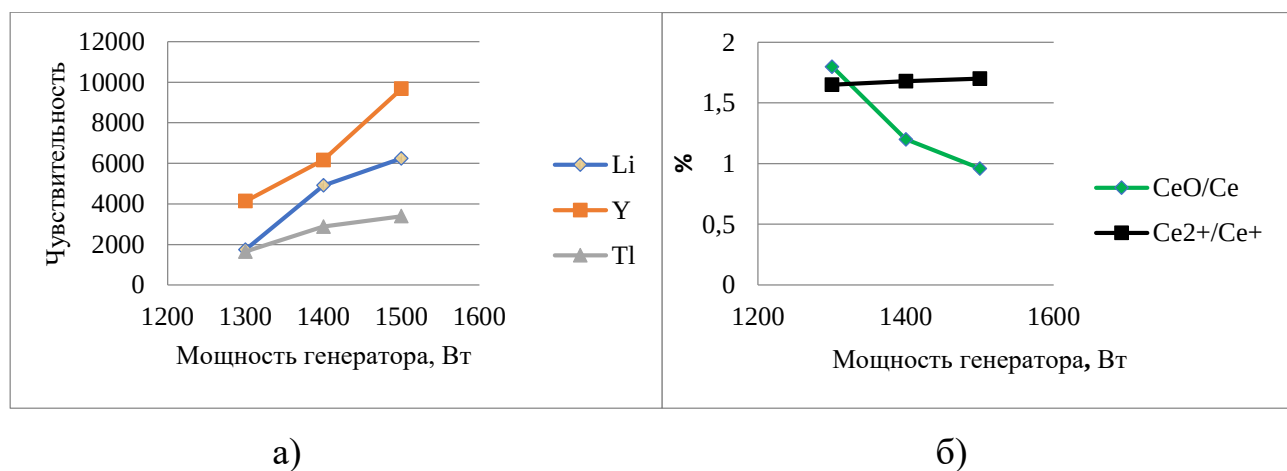


Рисунок 19 - Влияние величины мощности генератора: на чувствительность (а), на количество двухзарядных и оксидных ионов (б)

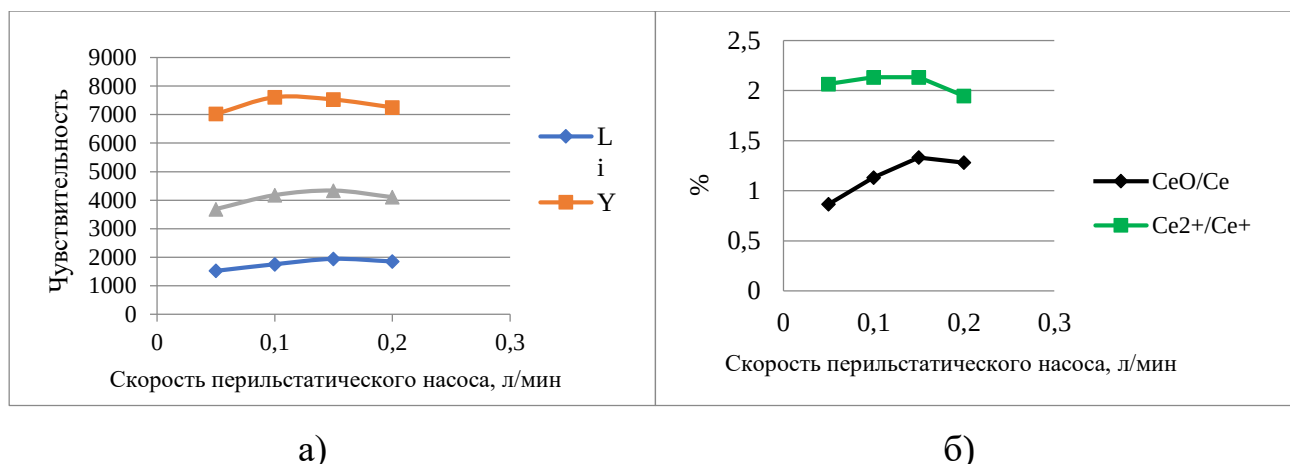


Рисунок 20 - Влияние скорости перистальтического насоса: на чувствительность (а), на количество двухзарядных и оксидных ионов (б)

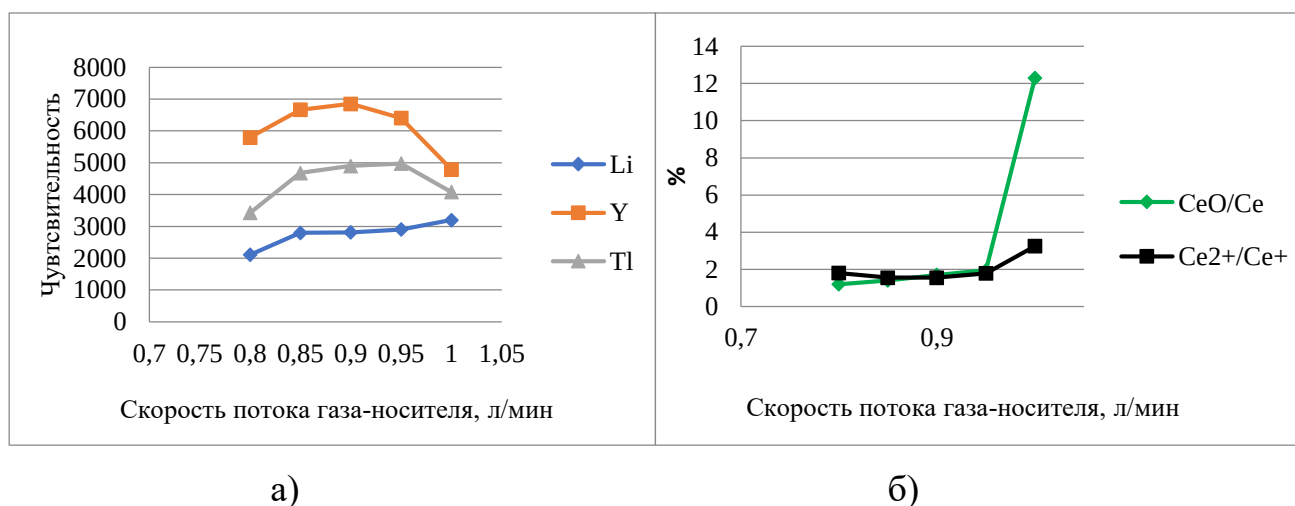
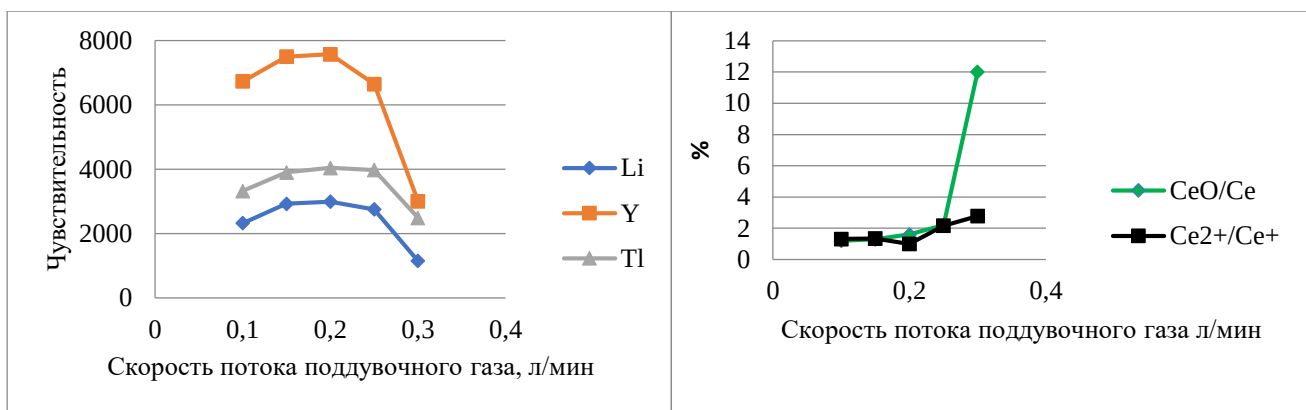


Рисунок 21 - Влияние скорости потока газа-носителя: на чувствительность (а), на количество двухзарядных и оксидных ионов (б)

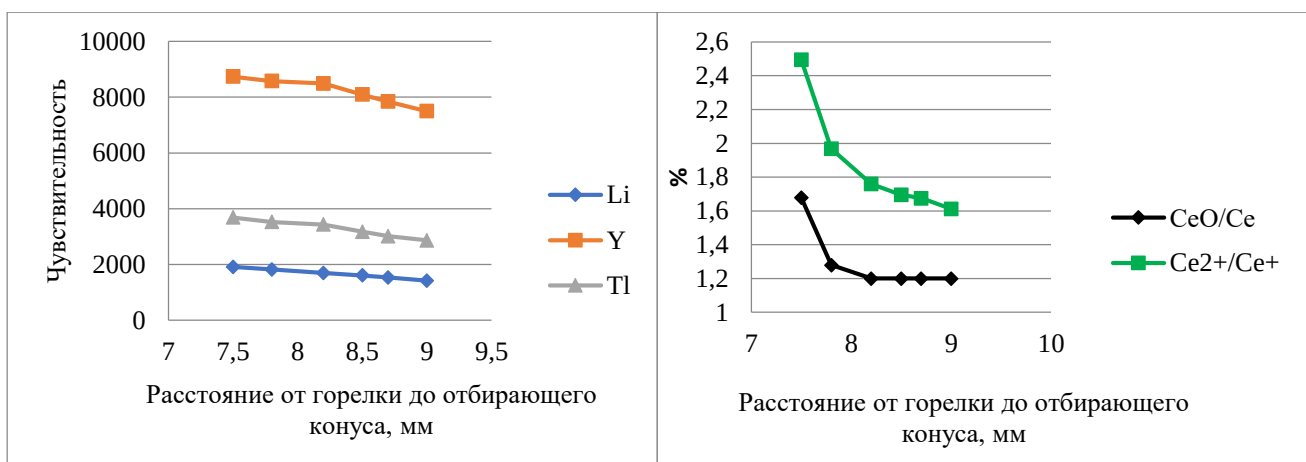
Скорость потока распыляющего газа – это фактор, определяющий величину сигнала и точность, достигаемую в анализе с индуктивно-связанной плазмой. Изменение скорости газового потока ведет не только к изменению скорости образования аэрозоля, скорости движения всех ионов к отбирающим конусам, расстояния от нормальной излучающей зоны до сэмплера (зоны пробоотбора) и, соответственно, концентрации определяемых элементов матрицы в плазме, а также изменяет уровень «шумов», создаваемых распылителем, процессом испарения аэрозоля и др. Увеличение расхода газа-носителя охлаждает плазму, что приводит обычно к увеличению содержания ионов MeO^{+} и уменьшению числа ионов M^{++} [87,89].



а)

б)

Рисунок 22 - Влияние скорости потока поддувочного газа: на чувствительность (а), на количество двухзарядных и оксидных ионов (б)



а)

б)

Рисунок 23 - Влияние расстояния от горелки до отбирающего конуса: на чувствительность (а), на количество двухзарядных и оксидных ионов (б)

Положение интерфейса (глубины пробоотбора) оказывает влияние на величину аналитического сигнала. При увеличении расстояния от горелки до отбирающего конуса максимум интенсивности достигается при более высоком значении расхода пробы [87]. На практике максимум аналитического сигнала достигается совмещением выбранного расстояния от горелки до отбирающего конуса с определенной мощностью и расходом пробы.

Мощность, расход газа и позиция пробоотбора взаимодействуют экстенсивно, и изменение одного из параметров требует подстройки всей системы для получения хороших результатов анализа. Именно поэтому необходимо проводить настройку прибора каждый раз перед анализом. В общем случае

влияние инструментальных параметров можно объяснить изменением температуры зоны пробоотбора и концентрации нуклидов аналита в ней [87,89].

Таким образом, на основании полученных данных выбраны оптимальные параметры работы прибора (таблица 22), для получения высокой чувствительности и хорошего аналитического сигнала.

Таблица 22 – «Устойчивые» настройки прибора при проведении анализа

Мощность ВЧ генератора	1500 Вт
Поток газа-носителя	0,9-0,95 л/мин
Поток поддувочного газа	0,19-0,21 л/мин
Скорость подачи пробы	0,1 об/мин
Расстояние от горелки до отбирающего конуса	8 мм
Диапазон сканирования масс	интервал масс 7-238
Тип распылителя	MicroMist (микроаэрозольный)

4.4 Обобщенный алгоритм пробоподготовки исследуемых объектов

Для проведения анализа методом ИСП-МС был выбран единый подход к пробоподготовке анализируемых объектов. Навеска образца ($m = 100$ мг) помещалась в стаканы для системы микроволнового разложения, выполненные из тефлона. Затем навеска обрабатывалась 7 мл предварительно очищенной азотной кислотой (ос.ч.) и 2 мл перекиси водорода. После этого использовали закрытую систему микроволнового разложения Milestone Start D ($t = 200$ °С, $p = 700$ Вт, время выдерживания – 20 мин.), для увеличения скорости протекания химической реакции и полного перевода пробы в раствор. Далее растворы высушивали при $t \sim (100-110)$ °С до образования влажных солей и переносили количественно в одноразовые полипропиленовые пробирки объемом 50 мл, фоновым раствором 15 % - ной азотной кислотой со следами плавиковой кислоты.

Перед проведением анализа с использованием масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой в каждый раствор пробы был введен внутренний стандарт. В качестве внутреннего стандарта можно использовать добавки элементов, как правило, не присутствующих в образцах для анализа (например,

In, Rh), содержание внутреннего стандарта в анализируемой пробе в анализируемом растворе составило (10-20) мкг/л. В данной работе в качестве внутреннего стандарта был использован раствор индия ($c = 10$ мг/л). После введения раствора внутреннего стандарта, объем раствора был доведен до 15 мл 15% - ной азотной кислотой со следами плавиковой кислоты. После этого была отобрана аликвота $V = 1$ мл в полипропиленовую пробирку объемом 15 мл и разбавлена до 3 мл бидистиллированной водой. Таким образом, коэффициент разбавления образцов в пересчете на отобранную навеску составил ~ 450 раз. Используя данный коэффициент разбавления, добились выполнения требований метода масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой по общему солевому содержанию в образцах и кислотности анализируемых растворов [90,91]. Далее образцы подвергались анализу методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой, с использованием квадрупольного масс-спектрометра Agilent 7500сх. Настройки прибора соответствовали настройкам, указанным в пункте 4.3.

Количественное содержание элементов в анализируемых образцах (мкг/г) находили по следующей формуле:

$$C = (X - X') \cdot k_{\text{dill}} \cdot k_{\text{matr}} \cdot 10^{-3}, \quad (4.1)$$

где X – полученное содержание элемента в образце, мг/г;

X' - содержание элемента в холостом опыте, мг/г;

k_{dill} – коэффициент разбавления образца;

k_{matr} – коэффициент матрицы.

4.5 Метрологическая аттестация методики анализа объектов растительного происхождения методом ИСП-МС

В результате проведенных испытаний по определению микропримесей в объектах растительного происхождения в соответствии с нормативным документом РМГ 61-2010 [79] проведена предварительная метрологическая аттестация методики. Показатели качества измерений методики представлены в таблице 23.

Таблица 23 - Результаты предварительной метрологической аттестации методики определения микроэлементов в объектах растительного происхождения методом ИСП-МС ($n=5$, $P=0,95$)

Элемент	Диапазон, мкг/г	Δ_c , мкг/г	$\sigma_{RЛ}$, мкг/г	$\Delta_{л}$, мкг/г	$\delta_{л}$, %
La	0,1-1	0,04	0,05	0,1	20
Ce	0,1-5	0,2	0,2	0,4	17
Pr	0,01-1	не значимо	0,005	0,01	23
Nd	0,1-1	0,04	0,05	0,1	20
Sm	0,01-1	не значимо	0,005	0,01	23
Eu	0,001-0,1	0,0053	0,0071	0,0149	30
Gd	0,01-1	не значимо	0,005	0,01	23
Tb	0,01-0,1	0,003	0,006	0,0115	23
Dy	0,01-1	не значимо	0,005	0,01	23
Ho	0,001-0,1	0,0053	0,0071	0,0149	30
Er	0,01-0,1	0,003	0,006	0,0115	23
Tm	0,001-0,1	0,0053	0,0071	0,0149	30
Yb	0,01-0,1	0,003	0,006	0,0115	23
Lu	0,001-0,1	0,0053	0,0071	0,0149	30
Rb	10-20	1,3	0,9	2,2	15
Sr	10-100	2	2,8	6	12
Y	0,1-1	0,04	0,05	0,1	20
Nb	0,01-1	не значимо	0,005	0,01	23
Sn	0,1–15	0,9	0,9	2	20
Sb	0,01-0,1	0,003	0,006	0,0115	23
Cs	0,01-0,1	0,003	0,006	0,0115	23
Hf	0,01-0,1	0,003	0,006	0,0115	23
Ta	0,001-0,1	0,0053	0,0071	0,0149	30
Tl	0,01-0,1	0,003	0,006	0,0115	23
Th	0,01-1	не значимо	0,005	0,01	23
U	0,01-1	не значимо	0,005	0,01	23
Примечание: Δ_c , мкг/г – показатель правильности методики; $\sigma_{RЛ}$, мкг/г – показатель внутрилабораторной прецизионности; $\Delta_{л}$, мкг/г и $\delta_{л}$, % – показатель точности и относительная погрешность измерений соответственно.					

4.6 Разработка методики анализа иксовых клещей методом ИСП-МС

4.6.1 Оценка чувствительности метода ИСП-МС при анализе одной особи

Для оценки чувствительности метода были проанализированы две пробы. Первая состояла из одного клеща с массой 0,002 г, вторая с двумя особями, общей массой 0,007 г. Перевод образца в раствор проводили в соответствии с пунктом 4.4 с разницей в разбавлении пробы перед началом анализа, ввиду малого количества анализируемого образца.

Перед началом анализа в каждую пробу добавили внутренний стандарт - 0,1 мл раствора индия ($c = 10$ мг/л) и довели до 5 мл тем же самым фоновым раствором. После этого была отобрана аликвота $V = 1$ мл в полипропиленовую пробирку объемом 15 мл и разбавлена до 3 мл бидистиллированной водой. Полученные растворы проанализировали методом масс-спектрометрии с ИСП на приборе Agilent 7500сх. Инструментальные параметры и условия съемки указаны в таблице 22. Результаты представлены в таблице 24.

Таблица 24 - Элементный состав отдельных особей иксовых клещей, установленный методом ИСП-МС

Элемент	Содержание, мкг/г		Элемент	Содержание, мкг/г	
	Клещ, 1 шт	Клещ, 2 шт		Клещ, 1 шт	Клещ, 2 шт
Sr	21,4	37,1	Gd	0,02	0,03
Y	0,18	0,31	Tb	0,006	0,005
Nb	0,07	0,13	Dy	0,02	0,03
Mo	1,23	1,89	Ho	0,003	0,004
Ag	3,2	7,1	Er	0,02	0,03
Sb	0,67	1,17	Tm	0,002	0,003
Te	0,17	0,26	Yb	0,02	0,03
Cs	0,04	0,07	Lu	0,002	0,004
La	0,33	0,57	Hf	0,02	0,06
Ce	0,67	2,22	Ta	0,003	0,007
Pr	0,05	0,06	W	0,08	0,08
Nd	0,13	0,31	Pb	1,27	2,52
Sm	0,03	0,05	Th	0,05	0,08
Eu	0,02	0,02	U	0,03	0,07

По полученным данным доказана чувствительность масс-спектрального анализа при определении элементного состава одной особи на тяжелые металлы, а также микроэлементы. Из таблицы 24 видно, что методом ИСП-МС можно определить элементный состав особей клещей при их индивидуальном рассмотрении.

4.6.2 Оценка показателей качества измерений ИСП-МС

Для оценки показателей качества измерений с целью создания методики спланирован специальный эксперимент. Для набора статистических данных увеличили количество особей клещей до 10. Пробоподготовка проводилась аналогично эксперименту для оценки чувствительности метода. Проба дополнительно была разбавлена в 2 раза. Исходную и разбавленную пробы разделили на 5 параллельных опытов для каждой. Полученные результаты представлены в таблицах 25-26.

Таблица 25 – Содержание элементов в параллельных образцах, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности методом ИСП-МС

Элемент	Содержание, мкг/г					Среднее значение, мкг/г
Rb	3,33	3,03	3,04	3,07	3,20	3,13
Sr	5,68	6,63	6,75	6,06	6,14	6,25
Y	0,08	0,07	0,08	0,09	0,09	0,08
Nb	0,04	0,04	0,03	0,04	0,02	0,03
Mo	0,40	0,48	0,51	0,57	0,57	0,51
Ag	0,43	0,38	0,38	0,38	0,41	0,40
Sb	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,14
Te	0,035	0,051	0,053	0,060	0,078	0,056
Cs	0,03	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02
La	0,26	0,27	0,26	0,24	0,26	0,26
Ce	0,53	0,55	0,53	0,54	0,55	0,53
Pr	0,031	0,033	0,031	0,034	0,028	0,032
Nd	0,092	0,101	0,085	0,094	0,097	0,094
Sm	0,006	0,007	0,008	0,009	0,010	0,009

Окончание таблицы 25

Eu	0,004	0,005	0,006	0,006	0,007	0,006
Gd	0,022	0,021	0,015	0,021	0,013	0,018
Tb	0,003	0,005	0,002	0,003	0,003	0,002
Dy	0,016	0,015	0,016	0,012	0,013	0,014
Ho	0,003	0,003	0,003	0,003	0,001	0,003
Er	0,005	0,004	0,004	0,005	0,007	0,006
Tm	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
Yb	0,001	0,009	0,012	0,013	0,013	0,010
Lu	0,007	0,008	0,009	0,011	0,012	0,010
Hf	0,009	0,008	0,008	0,011	0,009	0,009
Ta	0,003	0,003	0,002	0,002	0,002	0,002
W	0,050	0,057	0,064	0,061	0,059	0,058
Tl	0,021	0,028	0,026	0,028	0,021	0,025
Pb	0,580	0,586	0,590	0,593	0,595	0,590
Th	0,025	0,035	0,027	0,033	0,031	0,031
U	0,015	0,015	0,017	0,017	0,016	0,016

Таблица 26 – Содержание элементов в параллельных образцах, полученных в условиях внутрилабораторной прецизионности методом ИСП-МС с учетом разбавления в 2 раза

Элемент	Содержание, мкг/г					Среднее Значение, мкг/г
Rb	3,85	3,37	3,30	3,55	3,34	3,48
Sr	6,43	6,75	6,25	6,98	6,56	6,60
Y	0,06	0,12	0,07	0,07	0,12	0,09
Nb	0,03	0,04	0,05	0,03	0,03	0,04
Mo	0,34	0,38	0,42	0,52	0,56	0,44
Ag	0,44	0,47	0,41	0,44	0,55	0,46
Sb	0,16	0,13	0,13	0,18	0,18	0,15
Te	0,04	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06
Cs	0,03	0,03	0,05	0,02	0,01	0,02
La	0,28	0,22	0,27	0,27	0,31	0,28
Ce	0,55	0,63	0,62	0,54	0,63	0,59
Pr	0,03	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03
Nd	0,15	0,07	0,12	0,12	0,08	0,11
Sm	0,007	0,007	0,008	0,012	0,013	0,010
Eu	0,004	0,005	0,006	0,007	0,008	0,007

Окончание таблицы 26

Gd	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01
Tb	0,001	0,001	0,003	0,003	0,003	0,002
Dy	0,007	0,025	0,017	0,018	0,014	0,016
Ho	0,003	0,002	0,002	0,002	0,004	0,003
Er	0,008	0,007	0,007	0,009	0,006	0,007
Tm	0,003	0,002	0,005	0,002	0,002	0,002
Yb	0,01	0,009	0,01	0,01	0,01	0,01
Lu	0,006	0,007	0,009	0,012	0,010	0,009
Hf	0,010	0,009	0,011	0,012	0,014	0,011
Ta	0,001	0,002	0,003	0,004	0,002	0,002
W	0,087	0,086	0,063	0,064	0,065	0,072
Tl	0,016	0,022	0,019	0,019	0,018	0,019
Pb	0,63	0,56	0,67	0,67	0,58	0,625
Th	0,032	0,036	0,041	0,027	0,023	0,031
U	0,021	0,017	0,015	0,019	0,012	0,017

Для предварительной метрологической аттестации методики количественного определения элементов воспользовались алгоритмом «метод оценки показателей качества методики анализа с применением метода варьирования навески» (РМГ 61-2010) [79], алгоритм представлен в подпункте 3.3.

На основании проведенных исследований составлена объединённая таблица показателей качества измерений в экспериментально определенном диапазоне измерений.

Таблица 27 – Результаты предварительной метрологической аттестации методики определения элементов – примесей в клещах методом ИСП-МС ($n=5$, $P=0,95$)

Элемент	Диапазон измерений, мкг/г	Δ , %	$\sigma_{RЛ}$, %	σ_c , %
Rb	2-5	16	7	3
Sr	5-10	14	6	3
Y	0,001-0,01	37	15	10
Nb	0,001-0,05	26	12	5
Mo	0,1-1,0	40	17	10
Ag	0,1-0,5	28	12	6
Sb	0,1-1,0	35	15	9
Te	0,01-0,1	48	20	12

Окончание таблицы 27

Cs	0,02-0,03	35	15	8
La	0,1-1,0	18	7	4
Ce	0,1-1,0	17	7	3
Pr	0,01-0,1	23	9	6
Nd	0,01-0,1	37	17	7
Sm	0,01-0,02	42	17	8
Eu	0,01-0,1	47	20	13
Gd	0,05-0,2	47	19	12
Tb	0,0002-0,003	50	21	13
Dy	0,007-0,01	47	19	12
Ho	0,001-0,003	46	19	12
Er	0,005-0,01	50	22	12
Tm	0,001-0,005	45	19	11
Yb	0,005-0,02	53	16	21
Lu	0,005-0,01	47	19	12
Hf	0,005-0,02	42	18	10
Ta	0,001-0,004	4	5	23
W	0,05-0,1	41	18	9
Tl	0,01-0,02	39	17	8
Pb	0,1-1,0	14	6	3
Th	0,02-0,2	43	18	12
U	0,01-0,02	4	14	9
Примечание: σ_c , % – показатель правильности методики; $\sigma_{рл}$, мкг/г – показатель внутрилабораторной прецизионности; δ_l , % – относительная погрешность измерений.				

Вывод к главе 4

На основании проведенных исследований подобраны оптимальные условия проведения анализа методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой исследуемых объектов. Проведена оценка возможности метода в части определяемых элементов с учетом спектральных и неспектральных матричных влияний в анализируемых объектах. В данной главе проведена предварительная

метрологическая аттестация методик анализа биологических объектов и лекарственного растительного сырья.

Глава 5. Практические аспекты проведенных исследований

5.1 Апробация методики анализа лекарственного растительного сырья

Для апробации новых методик спектрального анализа объектов растительного происхождения нам предоставлены (Клиника НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольберга), а также приобретены аптечные сборы образцов растений, широко используемых в медицине, представляющие особый научный интерес: цветки ромашки аптечной, листья шалфея лекарственного, траву мелиссы лекарственной собрали - станица Благовещенская, Анапского района, Краснодарского края (июль 2016), листья лабазника вязолистного – с. Вороново, Кожевниковского района, Томской области (август 2016 г), листья эвкалипта прутовидного – Адлеровском районе, г. Сочи, Краснодарского края (октябрь 2016).

По разработанным методикам проведен анализ пяти образцов растительного сырья (таблицы 28-29). Результаты анализа свидетельствуют о том, что исследуемые объекты обладают богатым минеральным составом, в особенности листья шалфея, что указывает на возможность их использования в качестве источников разнообразных макро- и микроэлементов, включая жизненно необходимые, при различных патологических состояниях. Кроме того, полученные результаты показывают возможность сбора растительного материала в указанных районах. Разработанные методики предназначены для анализа растительного сырья и устанавливают порядок определения элементов методами ДАЭС с МАЭС, ИСП-МС и ПФ.

Таблица 28 - Элементный состав растительного сырья, определенный методами ДАЭС с МАЭС и ПФ (Na, K) по разработанной методике

Элемент	Трава мелиссы лекарственной	Листья эвкалипта прутовидного	Листья шалфея лекарственного	Цветки ромашки аптечной	Листья лабазника вязолистного
	Содержание в сухом образце, мкг/г				
K	$(3,2 \pm 0,4) \cdot 10^4$	$(1,96 \pm 0,21) \cdot 10^4$	$(2,23 \pm 0,24) \cdot 10^4$	$(4,2 \pm 0,4) \cdot 10^4$	$(1,85 \pm 0,22) \cdot 10^4$
Ca	$(1,20 \pm 0,16) \cdot 10^4$	$(0,98 \pm 0,13) \cdot 10^4$	$(1,56 \pm 0,22) \cdot 10^4$	$(0,58 \pm 0,06) \cdot 10^4$	$(0,50 \pm 0,06) \cdot 10^4$
Mg	$(4,2 \pm 0,5) \cdot 10^3$	$(2,04 \pm 0,31) \cdot 10^3$	$(4,3 \pm 0,5) \cdot 10^3$	$(1,64 \pm 0,23) \cdot 10^3$	$(2,05 \pm 0,32) \cdot 10^3$
Si	$(1,9 \pm 0,4) \cdot 10^3$	$(1,64 \pm 0,31) \cdot 10^3$	$(1,06 \pm 0,22) \cdot 10^4$	$(1,27 \pm 0,31) \cdot 10^3$	$(1,34 \pm 0,31) \cdot 10^3$
P	$(2,0 \pm 0,4) \cdot 10^3$	$(7,44 \pm 0,21) \cdot 10^3$	$(1,8 \pm 0,4) \cdot 10^3$	$(2,2 \pm 0,5) \cdot 10^3$	$(1,6 \pm 0,3) \cdot 10^3$
Na	420 ± 50	430 ± 45	160 ± 20	5400 ± 540	130 ± 15
Fe	510 ± 60	340 ± 40	1500 ± 120	360 ± 40	<100
Al	410 ± 35	230 ± 18	1140 ± 90	320 ± 25	50 ± 4
Mn	67 ± 5	70 ± 6	90 ± 7	53 ± 4	42 ± 3
Ti	30 ± 5	11 ± 2	170 ± 25	37 ± 6	4,0 ± 0,7
Ba	24 ± 3	40 ± 6	40 ± 5	1,22 ± 0,22	17 ± 2
Zn	30 ± 2	15 ± 1	103 ± 8	28 ± 3	24 ± 2
B	16 ± 2	22 ± 3	62 ± 7	23 ± 3	18 ± 2
Cu	5,9 ± 0,9	3,1 ± 0,5	21 ± 3	6,8 ± 0,9	4,1 ± 0,6
Mo	1,10 ± 0,10	0,139 ± 0,026	0,180 ± 0,021	0,37 ± 0,05	0,060 ± 0,007
Ni	1,65 ± 0,31	5,2 ± 0,7	5,5 ± 0,9	1,40 ± 0,30	<1
Cr	1,55 ± 0,32	0,56 ± 0,09	5,6 ± 1,2	0,91 ± 0,17	<0,5
Zr	1,20 ± 0,10	0,44 ± 0,04	17 ± 2	1,47 ± 0,24	0,0420 ± 0,0031
Pb	0,600 ± 0,031	0,172 ± 0,022	1,61 ± 0,11	0,380 ± 0,022	<0,1
V	0,40 ± 0,05	0,250 ± 0,030	0,92 ± 0,12	0,52 ± 0,07	0,060 ± 0,007
W	0,112 ± 0,012	0,033 ± 0,005	0,055 ± 0,008	0,0220 ± 0,0021	0,0221 ± 0,0031
Cd	0,170 ± 0,020	0,130 ± 0,021	0,202 ± 0,032	0,190 ± 0,020	<0,1
Co	0,060 ± 0,008	0,090 ± 0,012	0,31 ± 0,04	0,060 ± 0,008	0,040 ± 0,005
Be	0,031 ± 0,005	0,033 ± 0,006	0,030 ± 0,004	0,0190 ± 0,0031	0,0150 ± 0,0031

Таблица 29 - Элементный состав растительного сырья, определенный методом ИСП-МС по разработанной методике

Элемент	Водноосоковый луг	Листья эвкалипта прутовидного	Бадан	Репешок	Надземная часть <i>Apilosa</i>
	Содержание в сухом образце, мкг/г				
La	0,60 ± 0,12	0,36 ± 0,07	0,93 ± 0,19	0,20 ± 0,04	0,85 ± 0,17
Ce	0,80 ± 0,14	0,50 ± 0,09	0,54 ± 0,09	0,25 ± 0,04	1,82 ± 0,31
Pr	0,044 ± 0,010	0,051 ± 0,012	0,132 ± 0,031	0,030 ± 0,007	0,040 ± 0,009
Nd	0,60 ± 0,12	0,20 ± 0,04	0,47 ± 0,09	0,104 ± 0,020	0,142 ± 0,031
Sm	0,042 ± 0,010	0,032 ± 0,007	0,085 ± 0,020	0,018 ± 0,004	0,022 ± 0,005
Eu	0,070 ± 0,021	0,0030 ± 0,0009	0,017 ± 0,005	0,0060±0,0018	0,0093 ± 0,0030
Gd	0,0270 ± 0,0062	0,0150 ± 0,0031	0,0130±0,0031	0,017 ± 0,004	0,037 ± 0,009
Tb	0,041 ± 0,09	0,034 ± 0,008	0,090 ± 0,020	0,012 ± 0,003	0,0140 ± 0,0030
Dy	0,023 ± 0,053	0,027 ± 0,006	0,064 ± 0,015	0,0131±0,0030	0,027 ± 0,006
Ho	0,0043 ± 0,0013	0,0050 ± 0,0015	0,0110±0,0031	0,0020±0,0006	0,0050 ± 0,0015
Er	0,0112 ± 0,0032	0,018 ± 0,004	0,031 ± 0,007	0,060 ± 0,014	0,0135 ± 0,0032
Tm	0,0019 ± 0,0006	0,0030 ± 0,0009	0,0040±0,0012	0,0010±0,0003	0,0020 ± 0,0006
Yb	0,0111 ± 0,0031	0,0140 ± 0,0031	0,028 ± 0,006	0,040 ± 0,009	0,0142 ± 0,0030
Lu	0,0014 ± 0,0004	0,002 ± 0,0006	0,0050±0,0015	0,0010±0,0003	0,0020 ± 0,0006
Rb	16,0 ± 2,0	10,0 ± 2,0	14,0 ± 2,0	17,0 ± 3,0	18,0 ± 3,0
Sr	29,0 ± 3,0	54 ± 6	94 ± 11	46 ± 6	47 ± 6
Y	0,74 ± 0,15	0,22 ± 0,04	0,49 ± 0,10	0,76 ± 0,15	0,20 ± 0,04
Nb	0,40 ± 0,09	0,051 ± 0,012	0,32 ± 0,07	0,019 ± 0,004	0,050 ± 0,012
Sn	0,176 ± 0,031	10,0 ± 2,0	12,0 ± 3,0	0,66 ± 0,13	0,95 ± 0,19
Sb	0,090 ± 0,021	0,0143 ± 0,0031	0,078 ± 0,018	0,0110±0,0025	0,057 ± 0,013
Cs	0,090 ± 0,021	0,020 ± 0,005	0,080 ± 0,018	0,0100±0,0023	0,017 ± 0,004
Hf	0,044 ± 0,010	0,0144 ± 0,0030	0,020 ± 0,005	0,050 ± 0,012	0,0124 ± 0,0032
Ta	0,017 ± 0,005	0,0070 ± 0,0021	0,015 ± 0,005	0,0010±0,0003	0,0040±0,0012
Tl	0,036 ± 0,008	0,059 ± 0,014	>0,1	0,020 ± 0,005	0,030 ± 0,007
Th	0,038 ± 0,009	0,020 ± 0,005	0,039 ± 0,009	0,017 ± 0,004	0,029 ± 0,007
U	0,08 ± 0,018	0,036 ± 0,008	0,019 ± 0,004	0,060 ± 0,014	0,021 ± 0,005

5.2 Апробация методики анализа органов подопытных животных

Помимо анализа объектов растительного происхождения были проанализированы органы подопытных животных с применением разработанной методики методом ДАЭС с МАЭС. Результаты представлены в таблице 30.

Таблица 30 - Содержание элементов (%*, мкг/г) в тканях органов подопытных крыс определенное методом ДАЭС с МАЭС и ПФ**

Орган/ определяемый элемент	Мозг	Сердце	Кровь	Печень	Почки
K**	$(1,50 \pm 0,20)^*$	$(1,50 \pm 0,20)^*$	$(2,70 \pm 0,35)^*$	$(2,50 \pm 0,33)^*$	$(2,40 \pm 0,30)^*$
Na**	$(0,70 \pm 0,11)^*$	$(0,36 \pm 0,05)^*$	$(2,20 \pm 0,33)^*$	$(0,33 \pm 0,05)^*$	$(1,20 \pm 0,18)^*$
P	$(1,90 \pm 0,29)^*$	$(1,10 \pm 0,17)^*$	$(0,30 \pm 0,05)^*$	$(2,4 \pm 0,4)^*$	$(1,40 \pm 0,21)^*$
Ca	390 ± 51	290 ± 38	390 ± 51	$0,210 \pm 0,030$	240 ± 31
Mg	580 ± 70	1060 ± 127	270 ± 32	$1,40 \pm 0,17$	550 ± 66
Si	130 ± 25	230 ± 44	28 ± 5	$0,038 \pm 0,007$	180 ± 34
Fe	260 ± 52	50 ± 10	200 ± 40	$0,060 \pm 0,012$	26 ± 5
Zn	50 ± 11	60 ± 14	35 ± 8	$0,17 \pm 0,04$	90 ± 21
Al	29 ± 6	$0,014 \pm 0,003$	8 ± 2	$0,022 \pm 0,004$	$1,20 \pm 0,24$
Li**	$>1,5$	$0,360 \pm 0,072$	$0,88 \pm 0,18$	$0,50 \pm 0,10$	$1,10 \pm 0,22$
Mn	$6,0 \pm 1,1$	$5,0 \pm 1,0$	$0,100 \pm 0,019$	$0,020 \pm 0,004$	$6,0 \pm 1,1$
Cd	$4,0 \pm 1,0$	$4,0 \pm 1,0$	$0,14 \pm 0,04$	14 ± 4	$2,3 \pm 0,7$
Ni	$6,0 \pm 1,7$	$6,0 \pm 1,7$	< 3	< 3	< 3
Ba	$0,90 \pm 0,19$	$3,3 \pm 0,7$	$0,60 \pm 0,13$	$1,8 \pm 0,4$	$0,130 \pm 0,029$
Co	$0,18 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,04$	$0,040 \pm 0,010$	$0,30 \pm 0,08$	$0,70 \pm 0,18$
Cr	$0,060 \pm 0,016$	$4,6 \pm 1,2$	$11,0 \pm 3,0$	$0,13 \pm 0,04$	$0,037 \pm 0,009$
Cu	$0,20 \pm 0,05$	$2,3 \pm 0,6$	$7,0 \pm 1,7$	$0,0050 \pm 0,0012$	30 ± 7

Разработанная методика была использована при создании препаратов ритмомодулирующего действия. В организм подопытных крыс вводили экстракт Лабазника вязолистного, с содержанием лития 90 мкг/г. Методика была использована для отслеживания динамики распределения лития по различным

органам подопытных крыс. На рисунке 24 представлена наглядная модель распределения лития по организму крысы.

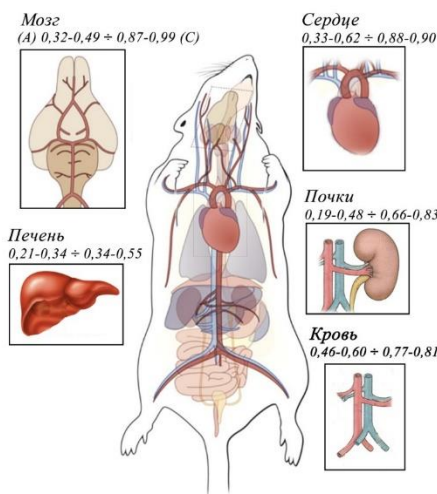


Рисунок 24 – Динамика распределения лития по организму подопытной крысы (А – интактная группа крыс, не получавшая экстракт Лабазника вязолистного; С – группа крыс, получавшая экстракт Лабазника вязолистного, с содержанием лития 90 мкг/г.)

Из рисунка 24 видно, что литий, в порядке уменьшения, распределяется по организму в следующей последовательности: мозг – почки – сердце – кровь – печень.

Кроме того, элементный состав необходим для корреляции между содержанием химических элементов в органах, тканях и гематологическими и биохимическими показателями крови. Такие исследования позволяют более полно оценить комплексное влияние химических элементов на макроорганизм и говорить о возможности неинвазивного тестирования его биохимического статуса.

5.3 Апробация методики анализа отдельных особей клещей

Образцы особей клещей для отработки разработанных методик были предоставлены сотрудниками кафедры беспозвоночных Биологического Института Томского Государственного Университета. Сбор иксодовых клещей проводили в период с мая по август 2017 года, в различных районах Томской области. В лаборатории клещи были рассортированы по видам, районам,

половому признаку и помещены по 5 штук в стерильные плотно закрывающиеся пробирки. Для более точного установления химического состава, исследуемые объекты анализировали не единичными особями, а колониями, отобранными с определенных мест обитания. В таблице 31 представлены результаты количественного химического анализа клещей, полученные с применением разработанной методики методом ДАЭС с МАЭС.

Таблица 31 - Содержание основных (%) и примесных (мкг/г) элементов в иксодовых клещах, определенное методом ДАЭС с МАЭС

Район	Северск		Тегульдэт		Лагерный сад		Стадион «Кедр»			
Вид	Ixodes persulcatus		Ixodes persulcatus		Dermacentor reticulatus		Ixodes persulcatus		Ixodes pavlovskyi	
Пол	Самец	Самка	Самец	Самка	Самец	Самка	Самец	Самка	Самец	Самка
Элемент	Содержание элементов, масс%									
Ca	0,38 ± 0,08	0,38 ± 0,08	0,28 ± 0,06	0,31 ± 0,06	0,31 ± 0,06	0,38 ± 0,08	0,29 ± 0,06	0,33 ± 0,07	0,32 ± 0,06	0,160±0,032
P	0,160±0,027	0,190 ± 0,032	0,210 ± 0,036	0,220 ±0,037	0,29 ± 0,05	0,37 ± 0,06	0,24 ± 0,04	0,36 ± 0,06	0,190 ±0,032	0,190±0,032
Fe	0,060±0,014	0,040 ± 0,009	0,040 ± 0,009	0,070 ±0,016	0,040 ±0,009	0,040 ±0,009	0,050 ±0,012	0,090±0,021	0,060±0,014	0,0300,007
Mg	0,040±0,009	0,050 ± 0,012	0,040 ± 0,009	0,030 ±0,007	0,050 ±0,012	0,060 ±0,014	0,030 ±0,007	0,060±0,014	0,0400,009	0,0400,009
Al	0,029±0,007	0,014 ± 0,003	0,039 ± 0,009	0,013 ±0,003	0,041 ±0,009	0,012 ±0,003	0,015 ±0,003	0,026±0,006	0,0140,003	0,039±0,009
Zn	0,040±0,010	0,040 ± 0,010	0,030 ± 0,007	0,021 ±0,005	0,040 ±0,010	0,030 ±0,007	0,030 ±0,007	0,050±0,012	0,023±0,006	0,030±0,007
Si	0,030±0,007	0,020 ± 0,005	0,030 ± 0,007	0,015 ±0,003	0,030 ±0,007	0,020 ±0,005	0,030 ±0,007	0,030±0,007	0,020±0,005	0,020±0,005
Элемент	Содержание элементов, мкг/г									
Ti	160 ± 40	190 ± 48	140 ± 35	100 ± 25	70 ± 18	80 ± 20	100 ± 25	160 ± 40	140 ± 35	90 ± 23
Cu	14 ± 4	21 ± 6	37 ± 10	26 ± 7	14 ± 4	22 ± 6	19 ± 5	18 ± 5	50 ± 13	40 ± 11
Mn	26 ± 7	21 ± 6	14 ± 4	8,0 ± 2,0	28 ± 8	11,0 ± 3,0	< 10	23 ± 6	< 10	9,0 ± 2,0
Ni	20 ± 5	11 ± 3	8,0 ± 2,0	6,0 ± 1,6	13,0 ± 3,5	21,0 ± 5,7	3,6 ± 1,0	8,0 ± 2,0	3,6 ± 1,0	6,0 ± 1,6
Ba	< 1	< 1	< 1	< 1	1,3 ± 0,4	11,0 ± 3,3	< 1	< 1	6,0 ± 1,8	0,37 ± 0,12

Результаты количественного химического анализа, полученные по разработанным методикам, были использованы для изучения степени накопления элементов в особях клещей в зависимости от места их обитания. Результаты представлены на рисунках 25-26.

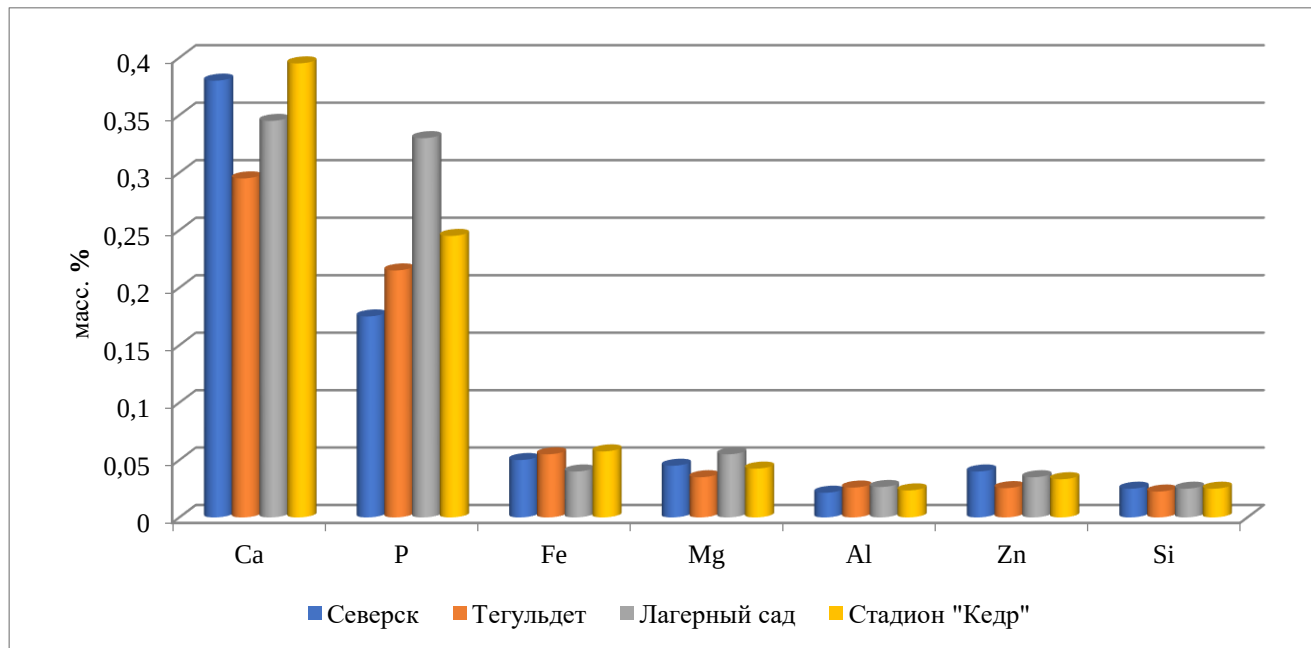


Рисунок 25 – Распределение основных элементов в особях клещей из различных мест обитания

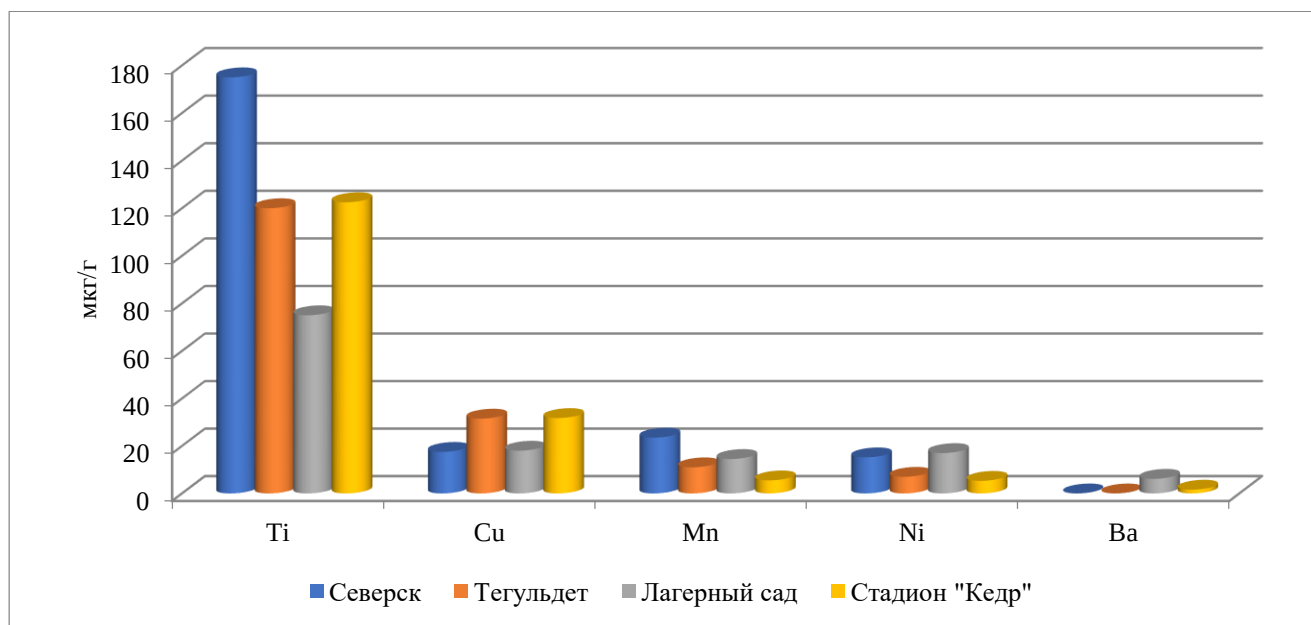


Рисунок 26 – Распределение примесных элементов в особях клещей из различных мест обитания

Исходя из рисунков 25-26 можно сделать вывод о высокой степени накопления в особях клещей таких элементов как, Ca, Zn, Ti, Mn, Ni в районе г.

Северск и предположить, что связано это с близким расположением Сибирского химического комбината.

Высокая степень накопления в особях Ca, P, Mg, Zn, Ni, Ba наблюдается в районе Лагерного сада, и связано это с тем, что район Лагерного сада – район с высокой концентрацией транспортных средств и как следствие выхлопных газов (продукты сгорания бензина – углекислый газ, оксид углерода (II), оксиды азота, углеводороды).

Наименее загрязненными районами являются стадион «Кедр» и с.Тегульдет. В клещах, обитающих в этой местности, наблюдается меньшая степень накопления основных и примесных элементов.

Помимо анализа степени накопления элементов в зависимости от места обитания, были проведены исследования и по сравнению содержания элементов в особях самцов и самок одного и того же вида клещей. Результаты представлены на рисунках 27-28.

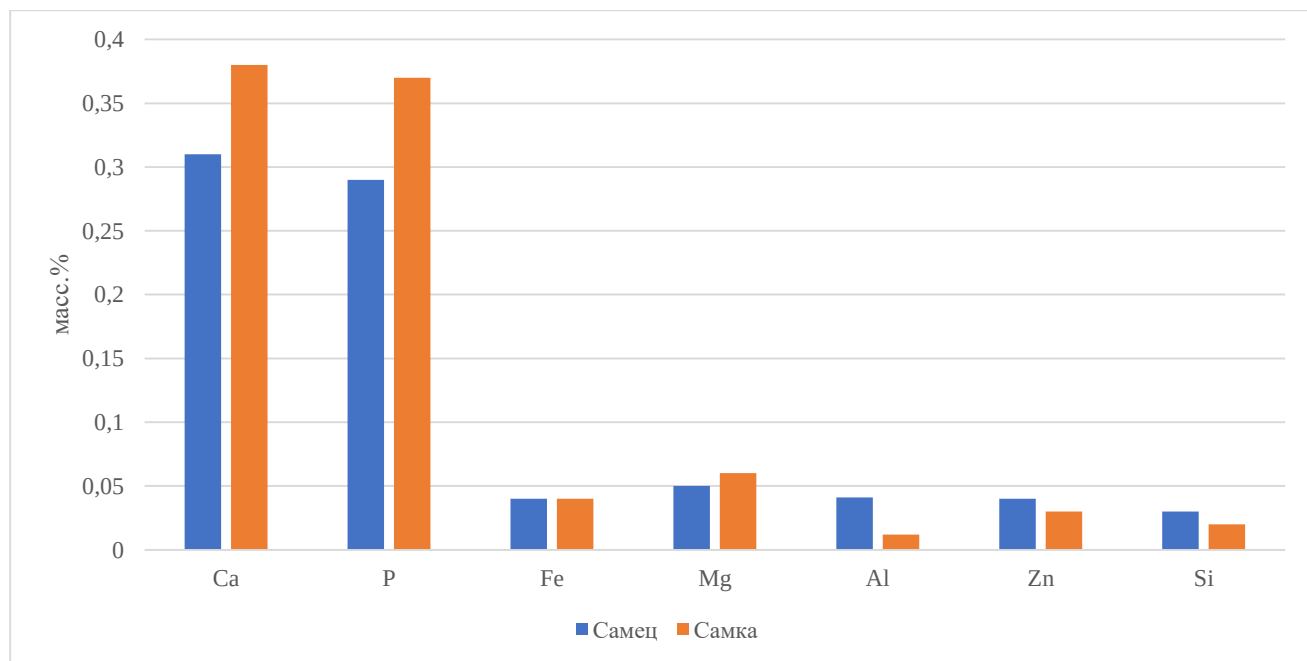


Рисунок 27 – Содержание основных элементов в особях самцов и самок, вида *Dermacentor reticulatus*, обитающих в районе Лагерного сада

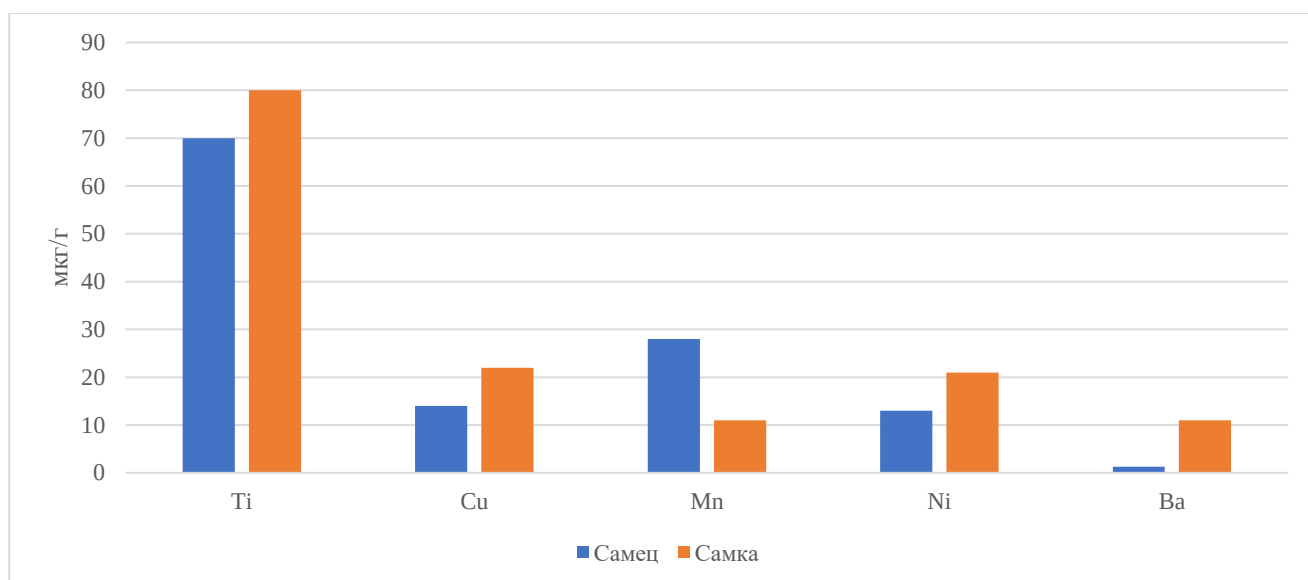


Рисунок 28 – Содержание примесных элементов в особях самцов и самок, вида *Dermacentor reticulatus*, обитающих в районе Лагерного сада

Из рисунков 27-28 видно, что в особях самок накапливается большее количество металлов, и как следствие, это приводит к мутации особей. Причем, потомство аномальных самок более чувствительно к заражению клещевыми патогенами, в частности, клещевой энцефалит.

Кроме того, полученные результаты можно использовать для получения данных по накоплению различных элементов в особях самок и самцов, обитающих в различных местностях. На рисунке 29 представлены графические зависимости накопления Cr и Ti особях самок и самцов различных видов, обитающих на стадионе «Кедр», города Томска.

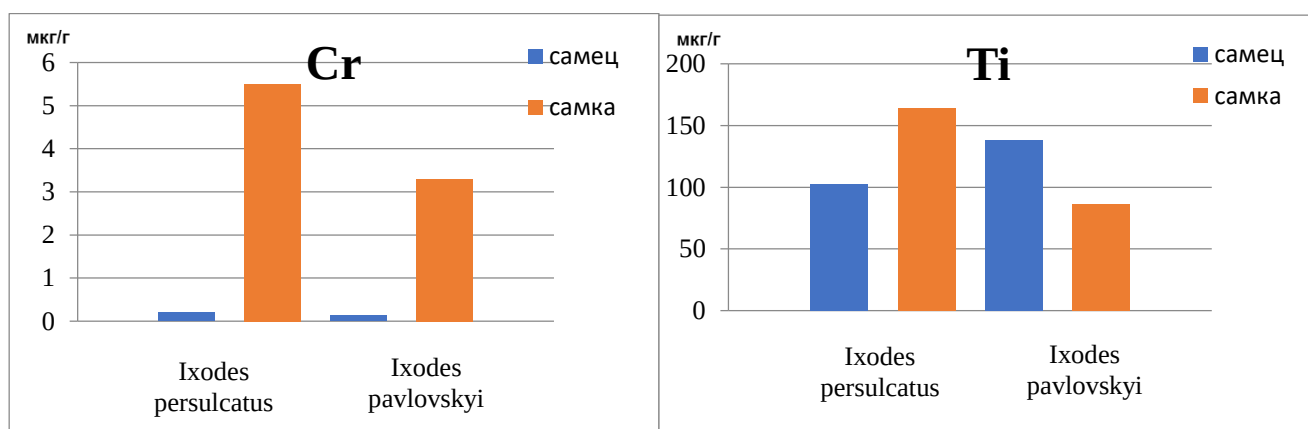


Рисунок 29 - Зависимость содержания хрома и титана у самок и самцов видов *Ixodes persulcatus* и *Ixodes pavlovskyi*, обитающих на стадионе «Кедр»

Вывод к главе 5

Результаты анализа объектов растительного происхождения с использованием разработанных методик показали, что исследуемые объекты обладают богатым минеральным составом, кроме того, полученные результаты определяют возможность сбора растительного материала в указанных районах. Проведено изучение динамики накопления контролируемых элементов в органах подопытных крыс, найденные закономерности положены в основу создания лекарственных препаратов ритмомодулирующего действия. На основании полученных результатов элементного анализа зольных остатков клещей проведена оценка экологического состояния различных районов Томской области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из проделанной работы следуют выводы:

1. Проведено метрологическое моделирование, заключающееся в предварительном назначении показателей качества измерений, ниже которых предполагаемые методы и методики не приемлемы для анализа выбранных объектов. Метрологическое моделирование позволило наметить пути усовершенствования применяемых методов в части улучшения метрологических характеристик и целесообразность использования комбинаций методов ДАЭС с МАЭС и ИСП-МС для решения конкретных поставленных задач в области медицины, экологии и биологии.

2. На основании проведенных физико-химических исследований установлены и подробно изучены матричные влияния при определении примесей и микропримесей изучаемых объектов методом атомной спектроскопии. Показано, что учет матричных влияний целесообразно проводить при концентрации примесей ниже $(1 \pm 0,1)$ мкг/г, при разбавлении пробы 1:10.

3. Разработаны и предварительно аттестованы методики атомно-эмиссионного спектрального анализа и метода ИСП-МС для определения примесей и микропримесей в исследуемых объектах.

4. Получены результаты экспериментальных исследований качественного и количественного химического состава лекарственного растительного сырья, органов подопытных животных и клещей. Результаты могут быть использованы при разработке новых лекарственных препаратов, изучении распределения элементов в органах живого организма, оценки экологической ситуации района, степени восприимчивости клещей к патогенным агентам.

Условные обозначения и сокращения

ДАЭС – дуговая атомно-эмиссионная спектроскопия

МАЭС – многоканальный анализатор эмиссионных спектров

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

ПФ – пламенная фотометрия

ААС – атомно-абсорбционная спектрометрия

ДТА – дифференциально-термический анализ

ГСО (СО) – государственный стандартный образец (стандартный образец)

МВИ – методика выполнения измерений

РМГ – рекомендации по межгосударственной стандартизации

СФ – спектрофотометрический метод

ос.ч – особо чистый

БАВ – биологически активные вещества

СКО – среднеквадратическое отклонение

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Отто М. Современные методы аналитической химии: в 2 т. / М. Отто, пер. с нем. / под ред. А.В. Гармаша. – М.: Техносфера, 2003. – 416 с.
2. НСАМ №512 - МС. Определение элементного состава образцов растительного происхождения (травы, листья) атомно-эмиссионным и масс-спектральными методами анализа. – М., 2011. – 50 с.
3. Шилова И.В. Особенности элементного состава экстракта ALFREDIA CERNUA, обладающего психотропным действием / И.В. Шилова, Н.В. Барановская, Р.Н. Мустафин, Н.И. Суслов // Химия растительного сырья. – 2019. - №4. – С.191-198.
4. Цицилин А.Н. Лекарственные растения. Атлас-справочник / А.Н. Цицилин. – М.: «Э», 2015. – 228 с.
5. Загурская Ю.В. Химический элементный состав HYPERICUM PERFORATUM – нормируемые химические элементы (As, Cd, Hg, Pb) / Ю.В. Загурская, Т.И. Сиромля // Химия растительного сырья. - 2020. -№3. - С. 163-170.
6. Кравченко И.В. Особенности накопления тяжелых металлов и биологически активных веществ растений в условиях нефтяного загрязнения на территории Среднего Приобья / И.В. Кравченко, Л.Ф. Шепелева, А.И. Шепелев [и др.]. // Проблемы региональной экологии. –2014. -№4. –С. 129-133.
7. Якушкина Н.И. Физиология растений / Н.И. Якушкина. – Москва: Владос, 2004. – 464 с.
8. Масляная А.В. Сырье лекарственных растений – источник микроэлементов / А.В. Масляная // Здоровье и образование в XXI веке. – 2008. –Т.10, №1. –112 с.
9. Cevheri C. Element content, botanical composition and nutritional characteristics of natural forage of Şanlıurfa/ C. Küçük, M. Avcı // Journal of Food, Agriculture & Environment. –2013. –Vol.11 (3&4). – С. 790–794.
10. Оберлис Д. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных / Д. Оберлис, Б. Харланд, А. Скальный. –СПб: Наука, 2008. – 544 с.
11. Западнюк И.П. Лабораторные животные / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. – М.: Рипол классик, 2005. – 284 с.

12. Baker Henry J. The Laboratory Rat: Biology and Diseases / Henry J. Baker, J. Russell Lindsey, Steven H. Wesibroth. – New York: American College o Laboratory, 2013. – 450 p.

13. Алексеев А.Н. Техногенное загрязнение, урбанизация и рост риска заболеваний трансмиссивными инфекциями / А.Н. Алексеев, Е.В. Дубинина // Вестник Российской военно - медицинской академии. -2009. -№2(26). – С. 184-191.

14. Алексеев А.Н. Функционирование паразитарной системы в условиях усиливающегося антропогенного пресса / А.Н. Алексеев, Е.В. Дубинина, О.В. Юшков. – Санкт-Петербург, 2008 – 146 с.

15. Мишаева Н.П. Зараженность иксодовых клещей белорусской популяции патогенными для человека микроорганизмами / Н.П. Мишаева, В.А. Стегний // Достижения медицины Беларуси. – 2010. - №15. – 23с.

16. Кузнецов Б.А. Курс зоологии / Б. А. Кузнецов, А. З. Чернов, Л. Н. Катанова. – М.: Агропромиздат, 1989. – 399 с.

17. Васильева И.Е. Определение микроэлементов в растениях методом дуговой атомно-эмиссионной спектрометрии / И.Е. Васильева, Е.В. Шабанова // Аналитика и контроль. -2019. –Т.23, №3. –С. 298-313.

18. Новости науки [электронный ресурс]:- URL: http://elementy.ru/novosti_nauki/165053/V_promyshlennykh_rayonakh_Rossii_poyavilis_kleshchi_mutanty (дата обращения: 01. 06. 2018).

19. Мишаева Н.П. Влияние тяжелых металлов на биологию иксодовых клещей и их зараженность возбудителями природно-очаговых инфекций / Н.П. Мишаева, В.А. Горбунов, А.Н. Алексеев // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2013. - №1 (9). –С. 83-88.

20. Алексеев А.Н. О взаимодействии клещевых патогенов в организме беспозвоночного хозяина, клеща *IXODES RICINUS* / А.Н. Алексеев, И.В. Головлева, Е.В. Дубинина, Н.П. Мишаева // Естественные и технические науки. – 2011. – №3.

21. Отмахов В.И. Исследование содержания токсичных элементов в составе клещей методом дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии с целью оценки их влияния на зараженность возбудителями природно-очаговых инфекций / В.И. Отмахов, Е.В. Петрова, И.С. Кускова, И.С. Черепанова // Вестник Томского государственного университета. Химия. – 2020. - №18. – С. 47-62.

22. The Behavior of the Laboratory Rat: A Handbook with Tests. – USA: Oxford University Press, 2005.

23. Sharp P. The Laboratory Rat, Second Edition / P. Sharp, J. Villano. – Singapore: CRC Press, 2012. – 399p.

24. Зиматкин С.М. Сравнительная анатомия печени и желчевыводящих путей человека и крысы / С.М. Зиматкин, Н.И. Марковец // Вестник ВГМУ. –2016. –Т. 15, № 3. –С. 18-23.

25. Ханина М.Г. Фармакогностическое исследование травы репейника волосистого: *Argimonia pilosa* Ledeb.: автореф. дис. канд. фарм. наук: 14.04.02 / М.Г. Ханина. – Самара, 2013. – 25 с.

26. Малеев В.В. Обзор Европейских рекомендаций по диагностике клещевых бактериальных инфекций в Европе / В.В. Малеев // Клин. микробиол. и антимикроб химиотерапия. – 2005, -Т. 7, № 2. –С. 130-143.

27. МУК 4.1.1482-03 Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, поливитаминных препаратах с микроэлементами, в биологически активных добавках к пище и в сырье для их изготовления методом атомной эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной аргоновой плазмой. –М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. -56с.

28. МУК 4.1.1483-03 Определение содержания химических элементов в диагностируемых биосубстратах, препаратах и биологически активных добавках методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной аргоновой плазмой. –М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. -36с.

29. ГОСТ 34141-2017 Продукты пищевые, корма, продовольственное сырье. Определение мышьяка, кадмия, ртути и свинца методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. – М.: Стандартинформ, 2017. – 11 с.

30. ГОСТ Р ИСО 27085-2012 Корма для животных. Определения содержания кальция, натрия, фосфора, магния, калия, железа, цинка, меди, марганца, кобальта, молибдена, мышьяка, свинца и кадмия методом ИСП-АЭС. – М.: Стандартинформ, 2014. – 27 с.

31. ГОСТ 32343-2013 (ISO 6869:2000) Корма, комбикорма. Определение содержания кальция, меди, железа, магния, марганца, калия, натрия и цинка методом атомно-абсорбционной спектрометрии. – М.: Стандартинформ, 2014. – 15 с.

32. ПНД Ф 16.2.2:2.3.71-2011 Методика измерений массовых долей металлов в осадках сточных вод, донных отложениях, образцах растительного происхождения спектральными методами. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере природопользования, 2011. – 38 с.

33. ОФС.1.5.3.0009.15 Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. – М.: Фармакопейный комитет Минздрава РФ, 2018. – 13 с.

34. ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий. – М.: Стандартинформ, 2019. – 25 с.

35. РМГ 76-2014 ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа. – М.: Стандартинформ, 2016. – 184 с.

36. Домбровская М.А. Совершенствование атомно-эмиссионной методики анализа графитового коллектора микропримесей / М.А. Домбровская, Д.Г. Лисенко, Ч.Г. Гильмуллина, Е. Д. Кубрина // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. -2007. -Т.83, № 1-2. –С. 51-54.

37. Сафронова Н.С. Атомно-эмиссионное определение редкоземельных и редких элементов в эколого – геологических объектах / Н.С. Сафронова, Е.С.

Гришанцева, В.Г. Гаранин, Л.П. Федорова // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2007. - Т.83, № 1-2. –С. 57-63.

38. 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.

39. Лабусов В.А. Приборы и комплексы компании «ВМК – Оптоэлектроника» для атомно-эмиссионного спектрального анализа. Современное состояние / В.А. Лабусов // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. -2015. -Т.81, № 1-2. –С. 12-21.

40. 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. –697с.

41. Дробышев А.Н. Основы атомного спектрального анализа / А.Н. Дробышев. – СПб.: Изд-во СПб. Ун-та, 2000. – 453с.

42. Отмахов В.И. Метод дуговой атомной спектрометрии с многоканальным анализатором эмиссионных спектров: [учеб-метод. пособие для вузов по направлению «Химия»] / В.И. Отмахов, Е.В. Петрова. – Томск: РИО ТГУ, 2014. – 75 с.

43. Карандашев В.К. Использование метода масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой в элементном анализе объектов окружающей среды / В.К. Карандашев и др. // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. - 2007. -Т. 73, № 1. - С. 12-22.

44. Инструкция по эксплуатации системы ChemStation (G1834B) Agilent 7500 ICP-MS. -2005. – 620 с.

45. Пупышев А.А. Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой. Образование ионов / А.А. Пупышев, В.Т. Суриков. -Екатеринбург: УрОРАН, 2006. – 276с.

46. Музгин В.Н. Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой – новый метод в аналитической химии / В.Н. Музгин, Н.Н. Емельянова, А.А. Пупышев // Аналитика и контроль. - 1998. - №3-4. - С. 3-25.

47. Hamza A. Trace determination and speciation of element in green tea / A. Hamza, S.O.Bahaffi, T.N.Abduljabbar, M.S.El-Shahawi // Result in Chemistry. – 2020.
48. Krachler M. Validation of ultratrace analysis of Co, Cr, Mo and Ni in whole blood, serum and urine using ICP-MS / M. Krachler. C Heisel, J.P. Kretzer // J. Anal. At. Spectrom. -2009, -Vol. 24. № 5. -P. 605–610.
49. Лейкин А.Ю. Системы подавления спектральных интерференций в масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой / А.Ю. Лейкин, П.В. Якимович // Журнал аналитической химии. -2012. -Т.67, №8. –С. 752-762.
50. Kira C.S. Fast and simple multi-element determination of essential and toxic metals in whole blood with quadrupole ICP-MS / C.S. Kira, A.M. Sakuma, N. Cruz Gouveia // J. Appl. Pharm. Sci. -2014. -Vol. 4. № 5. -P. 39–45.
51. Heitland P. Fast, simple and reliable routine determination of 23 elements in urine by ICP-MS / P. Heitland, H.D. Köster // J. Anal. At. Spectrom. -2004. -Vol. 19, № 12. -P. 1552–1558.
52. Экман Р. Масс-спектрометрия: аппаратура, толкование и приложения: базовый курс по основам масс-спектрометрии: от теоретических основ до тонкостей применения метода / Р. Экман, Е. Зильберин, Э. Вестман-Бринкмальм, А.Край; под ред. А.Т. Лебедева [пер. с англ. П.С. Метальникова]. –М.:Техносфера, 2013. -352с.
53. Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия для анализа объектов окружающей среды / А.Т. Лебедев. – М.: Техносфера, 2013. -624с.
54. Taylor A. Atomic spectrometry update. Clinical and biological materials, foods and beverages / A. Taylor, S. Branch, M.P. Day [et.al.] // J. Anal. Atom. Spectrom. - 2011. –Vol.26, №4. –653p.
55. Андреева В.Ю. Изучение элементного состава плодов калины обыкновенной и рябины обыкновенной различными современными методами / В.Ю. Андреева, Н.В. Исайкина, Т.Н. Цыбукова, Е.В.Петрова // Химия растительного сырья. -2016. -№1. -С. 177-180.
56. ГСО 8922-2007 (Тр-1), Стандартный образец состава травосмеси, Институт геохимии им. А.П. Вернадского СО РАН, Иркутск, 2008.

57. ГСО 8923-2007 (ЛБ-1), Стандартный образец состава листа березы, Институт геохимии им. А.П. Вернадского СО РАН, Иркутск, 2007.
58. MODAS - 4 Cormorant Tissue (М – 4 CormTis), Warsaw, 2015.
59. MODAS - 5 Cod Tissue (М – 5 CormTis), Warsaw, 2015.
60. Лабузов В.А. Метрологическое обеспечение комплексов приборов для атомно-эмиссионного спектрального анализа с анализаторами МАЭС / В.А.Лабузов, С.А. Кайдалов, О.И. Щербакова [и др.] // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2007. –Т.73, №5. – 40с.
61. Taylor A. Atomic spectrometry update: review of advances in the analysis of clinical and biological materials, foods and beverages / Andrew Taylor, Nicola Barlow, Martim P. Day, Sarah Hill, Marina Patriarca and Mark White // J. Anal. At. Spectrom., - 2017. -№32, P. 432-476.
62. Руководство пользователя микроволновой системы разложения StartDMilestone. - 2006. - 71 с.
63. Государственная фармакопея РФ. – 14–е изд., доп. – М. –2018. – 1004 с.
64. ГСО 8487-2003, Стандартные образцы состава графитового коллектора микропримесей. Комплект СОГ-37, УГТУ-УПИ, Екатеринбург, 2003.
65. Хайрулина А.Г. Определение натрия и калия в природных водах методом фотометрии пламени / А.Г. Хайрулина // Известия Алтайского государственного университета. -2012. -№3(2). –146с.
66. Délis Alves Souza Gomes. Evaluation of metal content in tea samples commercialized in sachets using multivariate data analysis techniques / Juscelia Pereira dos Santos Alves, Erik Galvão Paranhos da Silva, Cleber Galvão Novaes, Darci Santos Silva, Rosane Moura Aguiar, Sulene Alves Araújo, Ana Caroline Lessa dos Santos, Marcos Almeida Bezerra // Microchemical Journal. – 2019. – V.151.
67. 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.
68. Методика «Объекты биологического и растительного происхождения. Пищевые продукты и продовольственное сырье. Определение массовой доли

элементов методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой» №01.06.07.08.5 ФР.1.31.2008.05237 01.5.6.7.05.579/08 05.09.2008.

69. Лабусов В.А. Многоканальные оптические спектрометры для атомно-эмиссионного анализа: дис. д-ра. техн. наук: 05.11.07 / В.А. Лабусов – Новосибирск, 2009. -291с.

70. Пупышев А.А. Атомно-абсорбционный спектральный анализ / А.А. Пупышев. – М.: Техносфера, 2009. – 784 с.

71. Накамото К. ИК-спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений / К. Накамото. – М.:Мир, 1991. -536с.

72. Коваленко В.И. Идентификация веществ в смеси методом инфракрасной спектроскопии: методические указания / В.И. Коваленко, Т.Л. Диденко, А.В. Нестеров. – Казань, 2006. - 20с.

73. Васильев А.В. Инфракрасная спектроскопия органических и природных соединений: учебное пособие / А.В. Васильев, Е.В. Гриненко, А.О. Щукин, Т.Г. Федулина. –СПб.: СПбГЛТА, 2007. -54с.

74. Колесник И.В. Инфракрасная спектроскопия / И.В. Колесник, Н.А. Саполетова. – М.: Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2011. -88с.

75. Егоров А.С. Инфракрасная Фурье-спектроскопия: [Электронное учебно-методическое пособие]. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2012. – 40с. – Режим доступа: http://www.unn.ru/books/met_files/egorov_posobie.pdf.

76. Шаталова Т.Б. Методы термического анализа / Т.Б. Шаталова, О.А. Шляхтин, Е. Веряева. – М.: Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 2011. -72с.

77. 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. -56 с.

78. Кузнецова С.А. Основы рентгенофазового анализа: методические указания / С.А. Кузнецова, В.А. Батырева. – Томск: Том. гос. ун-т, 2006. -25 с.

79. РМГ 61-2010, Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. – М.: Стандартинформ, 2012. – 75 с.

80. Отмахов В.И. Структурно-методическая схема создания методик анализа оксидных материалов с применением метода атомно-эмиссионной спектроскопии / В.И. Отмахов, Е.В. Петрова, Н.В. Варламова // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. -2008. -Т. 74, № 8. -С. 15–17.

81. Отмахов В.И. Методологические особенности создания методик атомно-эмиссионного анализа различных объектов / В.И. Отмахов // Аналитика и контроль. -2005. -Т. 9, № 3. - С. 245–249.

82. Guo X. On-line titanium dioxide nanotube preconcentration for ICP-MS determination of trace silver in biological samples / X. Guo, S. Chen, Y. Zhang // Atomic spectroscopy. -2014. -V. 35. №2. -P. 55-60.

83. Todolí J-L. Liquid sample introduction in ICP spectrometry: A practical guide / J-L. Todolí, J-M. Mermet. – UK: Elsevier Science, 2008. - 300 p.

84. Balaram V. Rare elements: A review of applications, occurrence, exploration, analysis, recycling, and environmental impact / V. Balaram // Geoscience Frontiers/ - 2019. – V.10/ - P1285-1303.

85. Fraser M.M. Effect of concomitant elements on the distribution of ions in inductively coupled plasma-mass spectroscopy. Part 1. Elemental ions / M.M. Fraser, D. Beauchemin // Spectrochim. Acta Part B. - 2000. - Vol. 55, № 11. -P. 1705–1731.

86. Kotelnikova A. La, Ce and Nd in the soil-plant system in a vegetation experiment with barley (*Hordeum vulgare* L.) / Anna Kotelnikova, Ilya Fastovets, Olga Rogova, Dmitry S. Volkov // Ecotoxicology and Environmental Safety. -2020. – V. 206.

87. Нурубейли Т.К. Роль матричного эффекта в анализах биологических объектов масс-спектрометром с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS) / Т.К. Нурубейли, К.З. Нуриев, З.К. Нурубейли, К.Б. Губранов / Журнал технической физики // - 2019. – Т.89, №6. – С. 965-970.

88. Барановская Н.В. Редкоземельные и радиоактивные (Th, U) элементы в компонентах природной среды на территории Томской области / Н.В. Барановская, Е.В. Агеева, Б.Р. Соктоев, Д.В. Наркович, О.А. Денисова, Т.В. Матковская / Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов // - 2020. – Т.331, №1. – С.106-116.

89. Padmasulasini V. Determination of rare earth elements, yttrium, thorium, and other trace elements in monazite samples by inductively coupled plasma mass spectrometry / V. Padmasulasini, K. Satyanarayana // Atomic spectroscopy / - 2013.- Vol. 34, №1. – P. 6-15.

90. Суриков В.Т. Входная ионная оптика квадрупольных масс-спектрометров с индуктивно-связанной плазмой. Часть 2. Ассиметричные системы с параллельным смещением ионов / В.Т. Суриков, А.А. Пупышев // Аналитика и контроль. – 2014. – Т.18, №3. – 216с.

91. Chen S. Determination of trace Nd, Tb, and Ho in environmental samples by ICP-MS after column preconcentration and separation with titanium dioxide nanotubes / S. Chen, Y. He, D. Lu, X. Guo // Atomic spectroscopy. - 2013.- Vol. 34, №3. – P. 73-78.

92. Fiket Z. Determination of trace elements in wines by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry / Z. Fiket, N. Mikac, G. Kniewald // Atomic spectroscopy. - 2010. - Vol. 31, №2. – P. 44-56.

93. Никитин А.Я. Аномалии экзоскелета самок в популяциях таежного клеща азиатской части России / А.Я. Никитин, И.М. Морозов // Паразитология. – 2016. – Т.50, №5. – С.395-403.

94. Щучинова Л.Д. Встречаемость иксодовых клещей с аномалиями экзоскелета и их зараженность вирусом клещевого энцефалита в республике Алтай / Л.Д. Щучинова // Российский паразитологический журнал. – 2014. - №2. – С.18-21.

95. Junjie Zhang Study of enrichment difference of 64 elements among white tea subtypes and tea leaves of different maturity using inductively coupled plasma mass

spectrometry / Junjie Zhang, Xuehong Wei, Weidong Dai, Zhi Lin // Food Research International. – 2019. – V.126.

96. Voica C. Evalution of Metal concentration in Herbal Tea Beverages by ICP-MS and Chemometrics Techniques / Cezara Voica, Ioana Feher, Andreea Maria Iordache //Quality control in the Beverage Industry. - 2019. - V.17. – P.205-224.

97. Афанасьева О.Г. Антидепрессивное, психостимулирующее и ноотропное действие средства из макро- и микроэлементов / О.Г. Афанасьева, Н.И. Суслов, И.В. Шилова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – №2. – С. 167–169.

98. Недовесова С.А. Содержание биоэлементов в плазме крови и тканях крыс в норме и после избыточного поступления кальция и магния с питьевой водой / С.А. Недовесова, А.В.Аношин, А.П.Козлова, Р.И. Айзман // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. – 2019. – Т.105, №8, С.1021-1030.

99. Суслов Н.И. Влияние состава из макро- и микроэлементов на ориентировочно-исследовательское поведение и условно-рефлекторную деятельность животных / Н.И. Суслов, И.В. Шилова, О.Г. Афанасьева // Традиционная медицина. – 2011. – №5(28). – С. 388–393.

100. Шилова И. В. Разработка ноотропных средств на основе растений Сибири / И.В. Шилова, И.А. Самылина, Н.И. Суслов. – Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2013. – 268 с.

101. Шилова И.В. Разработка состава, технологии и стандартизация таблеток с экстрактом лабазника вязолистного сухим / И.В. Шилова, Т.Г. Хоружая, И.А. Самылина // Химико-фармацевтический журнал. – 2013. – Т.47, № 10. – С. 41–44.

102. Dobrovol'skii V.V Osnovy biogeokhimii. [Fundamentals of biogeochemistry] / V.V. Dobrovol'skii. - Moscow, 2003, - 400 p.

103. Shilova I.V. Medicinal plants chemical and pharmacological study of herbal preparations that improve cognitivemnestic functions / I.V. Shilova, N.I. Suslov, V.I. Otmaxov, L.N. Zibareva, I.A. Samulina, E.V. Mazin, E.V. Petrova, M.S. Babushkina, T.I. Kovaleva, I.S. Kuskova, A.V. Krapivin // Pharmaceutical Chemistry Journal. -2017. -Vol. 50, № 10. -P. 654-658.

104. ГОСТ 31671-2012 (EN 13805:2002) Продукты пищевые. Определение следовых элементов. Подготовка проб методом минерализации при повышенном давлении. М., 2004. – 11 с.

105. Ефремов А.Н. Содержание химических элементов в фитомассе некоторых представителей семейства HYDROCHARITACEAE / А.Н. Ефремов, Д.Е. Иминова, Е.А. Алехина, С.Т. Дюсембаев // Химия растительного сырья. – 2017. - №1. -С. 107-111.

106. Аношкина Ю.В. Анализ углеродистых геологических пород методами масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой и атомно-эмиссионной спектрометрии: дис. к-та хим. наук: 02.00.02 / Ю.В. Аношкина – Томск, 2012. - 165 с.

107. Лебедев С.В. Степень накопления и особенности взаимодействия токсичных и эссенциальных элементов в организме лабораторных животных (экспериментальные исследования) / С.В. Лебедев, Е.С. Барышева, Н.В. Малышева // Вестник ОГУ. – 2006. - №2. -С. 33-35.

108. Дериглазова М.А. Отражение среды обитания в минералогических особенностях зольного остатка организма человека / М.А. Дериглазова, Л.П. Рихванов, Н.В. Барановская, С.С. Ильенок // Вестник Забайкальского государственного университета. – 2019. –Т.25, №10. - С. 6-14.