

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ МНОГОЭЛЕМЕНТНОГО АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБ

Днепропетровский национальный университет им. Олеса Гончара

Проанализированы особенности, достижения и современные тенденции анализа биологических проб. Исследованы и систематизированы пути использования физических полей для повышения метрологических характеристик многоэлементного анализа биоматериалов различной природы.

Введение

Многообразие химических веществ и постоянное увеличение количества анализируемых проб, диапазон реальных содержаний определяет необходимость разработки новых и совершенствование существующих методов их определения. Мультиэлементный анализ определения незначительных уровней содержания химических элементов широко применяется в клинической лабораторной практике, при оценке антропогенного загрязнения окружающей среды, характеристике различных природных систем [1–5]. Под понятием многоэлементный анализ чаще всего подразумевают определение содержания микро- и ультрамикроэлементов. В настоящее время новые технологии, позволяют получать достоверную информацию о содержании химических элементов в «следовых количествах»: на уровне низких или суб-нг/дм³ в жидких биопробах и низких или суб-нг/г для твердых. Повышение чувствительности и специфичности способствует расширению объектов химического и биохимического анализа. Характерной чертой современности является проведения комплексного анализа с использованием все меньшего размера биологической пробы, увеличение диапазона определяемых элементов при очень низких концентрациях содержания и сложная органическая матрица анализируемых проб.

Следует отметить, что классические объекты экологического и/или токсикологического анализа – пробы животных и растительных организмов. В аналитическом контроле и экологическом мониторинге наибольшее внимание уделяется пробам (биологическим и медицинским) организма человека. Особенностью биологических проб является классификация их на две группы по химическому составу: образцы, которые характеризуются органической матрицей (жиры, липиды и

др.) и пробы смешанного состава – органического с неорганическими включениями (кровь, кости, волосы и др.) [3–7]. Именно пробы смешанного состава составляют классические объекты, как клинических лабораторных исследований, так и большей части токсикологического анализа, одна из основных целей которых есть определение микроэлементного состава биологических образцов.

Известно, что по уровню содержанию в организме человека (70 кг) химические элементы можно разделить на четыре группы:

- органогены (O, H, C, N) их содержание колеблется в количестве 7000–45500 г;
- макроэлементы (Ca, P, K, Na, S, Cl, Mg), 35–700 г;
- микроэлементы (Fe, Zn, F, Sr, Mo, Cu, Br, Si, Cs, J, Mn, Al, Pb, Cd, B, Rb), 0,08–4,20;
- ультрамикроэлементы (Se, Co, V, Cr, As, Ni, Li, Ba, Ti, Ag, Sn, Be, Ga, Ge, Hg, Sc, Zr, Bi, U, Th, Rh), 0,003–0,050 г [6,7].

Макроэлементы и органогены, составляют 99% элементного состава организма. Макроэлементы входят в состав структурной основы живого организма. Содержание некоторых из них колеблется в пределах 10^{-2} – 10^{-3} мас.% тела. Это, например Ca, Mg, K, Cl.

Микроэлементами называют элементы, присутствующие в организме человека в очень малых, так называемых «следовых» количествах (trace elements). Общее содержание этих элементов составляет около 0,01 мас.% тела.

При определении макро- и микроэлементного состава биоматериалов используются нейтронно-активационный, спектрографический и рентгено-флуоресцентный методы *in vivo* (при определении в живых костных тканях). Наиболее применение при анализе биомедицинских проб нашли методы атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС), масс-спектрометрии с индуктивно свя-

занной плазмой (ИСП-МС), атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП-АЭС), электрохимические методы, такие как инверсионная вольтамперометрия (ИВА), рентгенофлуоресцентный (РФА) и нейтронно-активационный анализ (НАА) [8–14]. В последнее время получили широкое распространение и считаются весьма эффективными методы определения элементов в органах и биосредах с помощью атомной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) и масс-спектропии (ИСП-МС), которые позволяют в одной пробе одновременно определить 20 и более макро- и микроэлементов, что очень важно при оценке взаимодействия и взаимовлияния одних элементов на другие. В табл. 1 приведены пределы обнаружения элементов при анализе биомедицинских проб [15].

Таблица 1

Пределы определения при масс-спектральном и атомно-эмиссионном анализе различных биоматериалов (растительные пробы, костные и мягкие ткани животных и т.п.)

Диапазон ПО	Определяемые элементы
1–5 мкг/г	B, Na, P, S, K, Ca
0,1–1,0 мкг/г	Mg, Al, Ti, Cr, Fe
0,01–0,10 мкг/г	Sc, V, Mn, Ni, Cu, Zn, Ga, Se, Rb, Sr, Ba, Hg, Pb
1–10 нг/г	Li, Co, As, Y, Rh, Pd, Ag, Cd, Te, Cs, Au, Bi, Th
<1 нг/г	Be, Ir, Pt, Tl, U

Следует отметить, что любой метод определения не является универсальным и имеет ряд ограничений. Большое количество работ посвящено выбору наиболее эффективного метода для анализа биологических проб. Статистика проведения элементного анализа приведена в табл. 2 [15,16].

Несколько прямых методов определения (флуоресценция, нейтронная активация, термогра-

виметрия) позволяют проводить изучение образцов без подготовки [10–13]. Однако, большинство методов (спектрометрия, вольтамперометрия, хроматография) требуют предварительной подготовки проб: их частичного или полного переведения в состояние, при котором возможно проведение инструментального анализа. Так, метод масс-спектропии с индуктивно связанной плазмой благодаря высокой чувствительности по отношению к большинству элементов, возможности их одновременного определения и высокой производительности занял ведущее положение среди инструментальных методов элементного анализа, но при анализе биомедицинских образцов одной из основных трудностей является устранение матричного эффекта. Поэтому для него, как и для каждого инструментального метода существуют специальные методики подготовки биологических образцов для элементного анализа. Однако нет четкого алгоритма подготовки проб, находящихся в различном состоянии. Ошибки и неточности на этой стадии аналитической процедуры могут в ряде случаев сделать результаты анализа бессмысленными.

Современные методы подготовки биологических проб направлены либо на удаление мешающих компонентов с последующим анализом минерализата, либо на извлечение определяемого вещества из биологической матрицы. В зависимости от физического состояния объекта анализа пробоотбор и пробоподготовка – наиболее длительные и их проведение может растягиваться от нескольких часов до суток. Поэтому рационально разделить анализируемые образцы, по признаку физического состояния матрицы, на три группы:

- 1 – жидкие: кровь, сыворотка и др.;
- 2 – мягкие: мышечная ткань, ткани органов;
- 3 – твердые: кости, волосяной покров, ороговевшие ткани и др.

Для биомедицинских образцов, характери-

Таблица 2

Применение методов анализа при элементном анализе биологических проб

Нейтронно-активационный анализ	Радиохимический нейтронно-активационный анализ	Пламенная атомно-эмиссионная и атомно-абсорбционная спектрофотометрия	Электротермическая атомно-абсорбционная спектрометрия	Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой	Атомно-абсорбционная спектрометрия с гибридной генерацией	Электрохимический анализ	Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой
INAA	RNAA	FASE and FAAS	ETAAS	ES ICP	AAA	ECA	ICP-MS
Fe, Sc, Co, Cs, Cl	Cr, I, Mn, Mo, V, As, Fe	Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Zn, Li, Al	Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Al	Cu, Cd, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb	Se, As, Hg	Cd, Cu, Pb	Y, Zr, Nb, Ru, Rh, Pd, Ag, Sb, Te, Hf, Ta, W, Re, Os, Ir, Pt, Tl, Bi, U

зующихся различным химическим составом и физическим состоянием матриц, выбор метода будет определяться требованиями к диапазону определяемых концентраций. Выбор и применение методов количественного определения химических элементов направлены, как правило, на достижение максимальной чувствительности, точности, специфичности и воспроизводимости анализа, а также на упрощение техники измерений. Выбранный метод потребует подготовки конкретных образцов, наличия оборудования и реактивов.

Экспериментальная часть

Выбранный метод анализа определяет и алгоритм пробоподготовки. Предварительная подготовка биомедицинских образцов, необходимая при проведении анализа инструментальными методами, достаточно трудоемка и длительна [17–21]. Качество пробоподготовки определяет и производительность и чувствительность анализа.

В зависимости от типа матрицы образца возможны различные техники пробоподготовки начиная от простого разведения пробы водой (для жидких проб), подкислением и добавлением внутренних стандартов и до сложных процедур, связанных с многоступенчатой стадией минерализации с последующим возможным разведением (для мягких и твердых). Особенности пробоподготовки при анализе проб крови, как одного из наиболее широко используемых и информативных биомедицинских объектов было сделано в работе [22]. Следует отметить, что подготовка образцов биологических тканей более сложная, т.к. анализируемые пробы для решающего большинства методов необходимо перевести в раствор. Поэтому разрушение органических матриц проб – один из самых важных и «узких» этапов химического анализа. Наиболее полное разложение матриц биологических образцов достигается проведением минерализации, как классическими методами сухого озоления, так и мокрым способом. Проведение сухого озоления позволяет практически полностью избежать влияния матрицы образцов при последующем инструментальном определении. Однако длительность и трудоемкость проведения, возможные потери легколетучих и не только продуктов озоления обуславливают получение ошибочных результатов химического анализа. Широко используемые методики классической пробоподготовки биологических объектов, основанные на проведении сухого и мокрого разложения исследуемых проб, трудоемки; требуют использования сильных окислителей и соблюдения повышенных мер безопасности. Большое внимание уделяется подбору окислительных смесей и параметров проведения минерализации [23–25]. Большое число исследований посвящено усовершенствованию и повышению экспрессности процесса пробоподготовки, и основано на эксперименталь-

ном подборе оптимальных условий проведения этапа минерализации биомедицинских образцов [26–33]. С целью ускорения этой стадии анализа широко применяются промышленные минерализаторы или автоклавные системы, с применением дополнительного воздействия физических полей, таких как микроволновое и др. Обобщая эффекты, наблюдаемые при воздействии микроволнового и ультразвукового излучений на различные среды и ткани выделены три основные стадии протекания процесса разрушения органических матриц проб (рис. 1).



Рис. 1. Эффекты и стадии воздействия физических полей на биоматериалы с различной природой матрицы

При усовершенствовании стадии пробоподготовки весьма перспективным является использование микроволновых полей (МВ) как для нагрева химических сред, так и для направленного изменения их структурного состояния. В работах [26–32] показано эффективность применения микроволнового излучения как активатора аналитического процесса. При усовершенствовании стадии пробоподготовки использование микроволновых полей является весьма перспективным как для нагрева химических сред, так и для направленного изменения их структурного состояния. При рассмотрении воздействия микроволнового излучения на белковые матрицы проб можно выделить два основных механизма их деструкции: физический и химический. Физический механизм связан с разрушением структуры полимера, в основном, под действием микроволн, импульс которых достаточно эффективно передается атомам или фрагментам молекулы, выбивая их из молекулярной структуры. Химический – за счет протекания реакций на поверхности полимера с уча-

ствием различных образующихся радикалов. Использование современных микроволновых минерализаторов позволяет получать при высоких температурах и высокоагрессивных средах хорошие метрологические характеристики. Этот способ подготовки проб биологических объектов имеет ряд преимуществ (эффективность, высокая производительность, возможность контроля за ходом процесса, безопасность работы), что является причиной его широкого внедрения в практику многих лабораторий, особенно при анализе большого количества проб. Однако, следует отметить, что при проведении микроволновой минерализации биоматериалов различной природы используются не только различные технологические параметры (давление, время), но и различные окислители. Основным недостатком является разрушение аппаратуры вследствие летучести используемых реактивов.

Ультразвуковая минерализация более безопасна, позволяет проводить процесс при нормальном давлении. Это исключает трудности, наблюдаемые при микроволновом ведении процесса, особенно с нагревом в МВ поле концентрированных кислот, позволяет избежать разрушительного действия на используемую аппаратуру и посуду, и следовательно, удешевить анализ. Таким образом, ультразвуковая минерализация позволяет значительно упростить и ускорить проведение процесса по сравнению с классическими методиками проведения. Полнота разложения проб с использованием энергии ультразвука позволяет анализировать большое число образцов, значительно сократив время анализа [34–36]. Следует отметить, что область применения ультразвуковой минерализации изучена сравнительно мало по сравнению с микроволновой методикой. Для биомедицинских проб ультразвуковая минерализация должна быть адаптирована с учетом особенностей их строения. Показано, что прохождение ударной волны в системе «проба-окислитель» сопровождается возникновением кавитаций, локальных ударных волн и высокодисперсных кумулятивных струй, способствующих ускорению процессов диффузии в системах «жидкость-твердое тело». В некоторых случаях после схлопывания кавитационных пузырьков возникают интенсивные микропотоки жидкости и мощные локальные ударные волны, которые ускоряют массоперенос. При ультразвуковом воздействии на полимерные цепи происходит их денатурация, они сильно растягиваются и распадаются на мономеры. Нами проводилось изучение влияния состава окислительной смеси и параметров ультразвукового воздействия на белковую матрицу пробы [35–38]. Показано, что ультразвуковая обработка ускоряет деструкцию органической матрицы и позволяет добиться полного разрушения органической матрицы.

Применение комбинированного воздействия

химических окислителей и физических полей схематически представлено на рис. 2.

Результаты и их обсуждение

Исследование использования дополнительного действия физических полей на различных этапах пробоподготовки биообразцов всех видов позволило предложить ускоренные методики проведения многоэлементного анализа атомно-абсорбционным и атомно-эмиссионным с индуктивно связанной плазмой методами [37–41]. Методика и временные характеристики каждого этапа анализа мягких и твердых биомедицинских образцов, при проведении анализа методами ААС и АЭС ИСП, приведены на рис. 3.

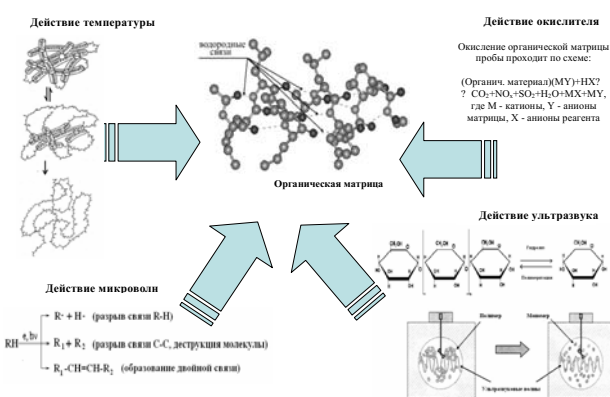


Рис. 2. Схема воздействия различных факторов на органическую матрицу биологических проб

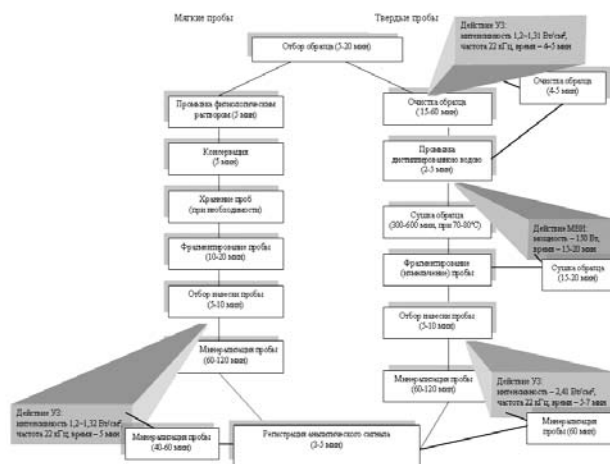


Рис. 3. Аналитический процесс в анализе мягких и твердых биомедицинских проб

Классификация биомедицинских объектов и целесообразность и эффективность использования физических полей при проведении их пробоподготовки представлены в табл. 3.

Как видно из данных, приведенных в табл. 3 применение комбинированного воздействия физических полей на различных этапах пробоподготовки позволяет значительно сократить время анализа [34,38–40].

Временные параметры проведения этапов пробоподготовки для биопроб различной природы

Этап пробоподготовки	Параметры действия полей	Время проведения этапа, с воздействием физических полей, мин	Время проведения этапа по стандартной методике, мин
Жидкие биомедицинские пробы			
Сушка (при необходимости)	Действие МВИ: мощность 300 Вт, время 30 мин	30	120–300
Минерализация	Действие УЗ: интенсивность 3,2 Вт/см ² ; частота 22 кГц; время 10 мин	10	30–120
Мягкие биомедицинские пробы			
Минерализация	Действие УЗ: интенсивность 1,2–1,3 Вт/см ² ; частота 22 кГц; время 3 мин	30–40	40–120
Твердые биомедицинские пробы			
Очистка	Действие УЗ: интенсивность 1,2–1,3 Вт/см ² ; частота 22 кГц; время 4–5 мин	5–10	15–60
Сушка	Действие МВИ: мощность 150 Вт, время 15–20 мин	15–20	300–600
Минерализация	Действие УЗ: интенсивность 2,41 Вт/см ² ; частота 22 кГц; время 5–7 мин	60	90–120

Выводы

Описаны методы определения металлов в биологических пробах различного вида.

Показано, что при интенсификации пробоподготовки таких проб чаще всего не учитывается их состав и структура. Приведена классификация биологических проб по их агрегатному состоянию, что позволило систематизировать эффективность и целесообразность проведения минерализации по различным методикам и схемам с использованием действия физических полей.

Показана эффективность применения различных физических полей для повышения экспрессности химического анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Майстренко В.Н., Хамитов Р.З., Будников Г.К. Эколого-аналитический мониторинг супертоксикантов. – М.: Химия, 1996. – 319с.
2. Электроаналитические методы в контроле окружающей среды / Кальвода Р., Зыка Р., Штулик К. и др. – М.: Химия, 1990. – 240 с.
3. Другов Ю.С., Родин А.А. Анализ загрязненных биосред и пищевых продуктов. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. – 294 с.
4. Аналитические методы в биоэлементологии / А.В. Скальный, Е.В. Лакарова, В.В. Кузнецов, М.Г. Скальная. – СПб.: Наука, 2009. – 264 с.
5. Rodushkin I., Engström E., Baxter D.C. Sources of contamination and remedial strategies in the multi-elemental trace analysis laboratory // Anal Bioanal Chem. – 2010. – Vol.396. – Iss.1. – P.365-377.
6. О содержании «микро-» и «макроэлементов» в организме человека / Ф.А. Чмиленко, Ю.С. Сапа, Т.С. Чмиленко, О.В. Саевич // Вісник Дніпропетровського ун-ту. Сер. Медицина і охорона здоров'я. – 2000. – Вип. 2. – С.144-149.
7. Скальный А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. – М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век»: Мир, 2004. – 216 с.
8. Johnson H.L., Sauberlich H.E. Trace element analysis in biological samples // Clinical, Biochemical and Nutritional Aspects of Trace Elements. – N. Y.: Alan R. Liss Inc., 1982. – P.462-468.
9. Iyengar G.V., Subramanian K.S., Woittiez J.R.W. Elemental Analysis of Biological Samples. Principles and Practice. – CRC Press: Boca Raton, 1997. – 255 p.
10. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. – М.: Медицина, 1982. – 368 с.
11. Veillon Claude. Trace Element Analysis of Biological Samples // Anal. Chem. – 1986. – Vol.58. – Iss. 8. – P.851-866.
12. Шаршунова М., Шварц Б., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармазии и клинической биохимии. – М.: Мир, 1980. – 624 с. – Т.2. – 535 с.
13. Van Loon J.C. Selected method of trace metal analysis. Biological and environmental samples. – Wiley: Interscience, N. Y., 1985. – 326 p.
14. Определение химических форм микроэлементов в биологических объектах / Н.Б. Иваненко, Н.Д. Соловьев, А.А. Иваненко, Л.Н. Москвин // Аналитика и контроль – 2012. – Т.16. – № 2. – С.108-133.
15. Robert M. Parr. Technical Considerations for Sampling and Sample Preparation of Biomedical Samples for Trace Element

- Analysis // Journal of Research of the National Bureau of Standards – 1986. – Vol.91. – Vol.2. – P.51-57.
16. *Blood, Urine, and Sweat (BUS) Study: Monitoring and Elimination of Bioaccumulated Toxic Elements* / S.J. Genuis, D. Birkholz, I. Rodushkin, S. Beesoon // Archives of Environmental Contamination and Toxicology – 2011. – Vol.61. – Iss.2. – P.344-357.
17. *Карпов Ю.А. Савостин А.П.* Методы пробоотбора и пробоподготовки. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – 234 с.
18. *Dulski T.R.* Trace elemental analysis of metal / Methods and techniques. – N. Y.: Marcel Dekker Inc, 1999. – 581 p.
19. *Influence of ashing techniques on the analysis of trace elements in animal tissue* / Michael S. Clegg, Carl L. Keen, Bo Lunnnerdal, Lucille S. Hurley // Biological Trace Element Research. – 1981. – Vol.3. – Iss. 2. – P.107-115.
20. *Subramanian K.* Determination of metals in biofluids and tissues: Sample preparation methods for atomic spectroscopic techniques // Spectrochimica Acta. – 1996. –Vol.51. – P.291-319.
21. *Kazim U., Yılmaz E., Esengyl K.* The determination of heavy metal accumulation ratios in muscle, skin and gills of some migratory fish species by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) in Beymelek Lagoon (Antalya/Turkey) // Microchemical. – 2008. – Vol.90. – P.67-70.
22. *Чмиленко Ф.А., Саевич О.В.* Химический анализ крови // Вісник Дніпропетровського ун-ту. Сер. Хімія. – 2012. – Т.20. – № 3/1. – С.47-57.
23. *Ultra-trace analysis of platinum in human tissue samples* / E. Rudolf, S. Hann, G. Stringeler, C. Pietsch // Anal. And Bioanal. Chem. – 2005. – № 7. – P.1500-1506.
24. *Mader P., Szakova J., Miholova D.* Classic dry ashing biological and agricultural materials. Part II. Losses of analytes due to their inhibition in insoluble residue // Analysis. – 1998. – Vol.26. – P.121-129.
25. *Бок Р.* Методы разложения в аналитической химии. – М.: Химия, 1984. – 432 с.
26. *Kubrakova I.* Microwave-assisted sample preparation and preconcentration for ETAAS // Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy. – 1997. – Vol.52. – Iss. 9-10. – P.1469-1481.
27. *Микроволновое* разложение биологических объектов для последующего атомно-абсорбционного и атомно-эмиссионного (с индуктивно связанной плазмой) анализа / Седых Э.М., Петровская И.Н., Матусевич Г.П., Старшинова Н.П., Банных Л.Н., Орлова В.А. // Журн. аналит. химии. – 1991 – Т.46. – № 2. – С.292-299.
28. *Кингстон Г. М., Джесси Л. Б.* Пробоподготовка в микроволновых печах: Теория и практика / Ред. Г.М. Кингстона. – М.: Мир, 1991. – 336 с.
29. *СВЧ* – излучение как фактор интенсификации пробоподготовки. Анализ объектов с органической матрицей / И.В. Кубракова, Т.Ф. Кудинова, Е.Б. Ставнивенко, Н.М. Кузьмин // Журн. аналит. химии. – 1997. – Т.52. – № 6. – С.587-593.
30. *Кузьмин Н.М. Кубракова И.В.* Микроволновая пробоподготовка // Журн. аналит. химии. – 1996. – Т.51. – № 1. – С.44-48.
31. *Микроволновое* окисление органических веществ азотной кислотой / И.В. Кубракова, А.А. Формановский, Т.Ф. Кудинова, Н.М. Кузьмин // Журн. аналит. химии. – 1999. – Т.54. – № 5 – С.524-530.
32. *Чмиленко Ф.А., Саевич О.В., Чмиленко Т.С.* Микроволновое излучение в пробоподготовке биомедицинских образцов при определении металлов // Вопр. химии и хим. технологии. – 2011. – № 5. – С.89-93.
33. *Priego-Capote F., Luquede Castro M.D.* Ultrasound-assisted digestion: A useful alternative in sample preparation // Journal of Biochemical and Biophysical Methods. – 2007. – Vol.70. – № 2. – P.299-310.
34. *Радж Б., Раджендран В., Паланичани П.* Применение ультразвука: Пер. с франц. – М.: Техносфера, 2006. – 567 с.
35. *Чмиленко Ф.О., Бакланов О.М.* Використання ультразвукового випромінювання у хімічному аналізі. – Горлівка: ПП «Видавництво Ліхтар», 2009. – 172 с.
36. *Чмиленко Ф.А., Бакланов А.Н.* Ультразвук в аналитической химии. Теория и практика: – Д.: Изд-во Днепропетр. ун-та, 2001. – 264 с.
37. *Ускоренное* атомно-абсорбционное определение тяжелых металлов в волосах / Т.С. Чмиленко, О.В. Саевич, Ф.А. Чмиленко, А.В. Смитюк // Вісник Дніпропетровського ун-ту. Сер. Хімія. – 2002. – Вип.8. – С.3-6.
38. *Чмиленко Ф.А., Саевич О.В.* Ускоренная методика определения содержания металлов в мягких тканях с комплексной физической и химической пробоподготовкой // Вісник Дніпропетровського ун-ту. Сер. Хімія. – 2008. – Вип. 14 – Т.16. – № 3/1. – С.73-76.
39. *Експресна* методика визначення біоелементів у волосі людини / Т.С. Чмиленко, Ю.С. Сапа, Ф.О. Чмиленко, О.В. Саевич // Вісник Дніпропетровського ун-ту. Сер. Медицина та охорона здоров'я. – 2003. – № 4. – С.120-123.
40. *Чмиленко Ф.А., Саевич О.В., Смитюк Н.М.* Атомно-абсорбционное определение металлов в крови // Вопр. химии и хим. технологии – 2009. – № 2. – С.95-101.
41. *Ускоренная* методика определения металлов в пробах костной и хрящевой ткани / Ф.А. Чмиленко, Н.М. Смитюк, О.В. Саевич, М.Л. Борисенко // Вопр. химии и хим. технологии. – 2011. – № 3. – С.87-91.

Поступила в редакцию 22.04.2013