

УДК 343.983

Ф.О. Чмиленко, доктор хімічних наук, професор,
завідувач кафедри аналітичної хімії Дніпропетровського
національного університету імені Олеся Гончара

О.В. Саєвич, кандидат хімічних наук, доцент
кафедри фізичної та неорганічної хімії Дніпропетровського
національного університету імені Олеся Гончара

Т.С. Чмиленко, кандидат хімічних наук,
старший науковий співробітник кафедри аналітичної
хімії Дніпропетровського національного університету
імені Олеся Гончара

Ю.В. Бохан, кандидат хімічних наук, доцент
кафедри хімії Кіровоградського державного педагогічного
університету імені Володимира Винниченка

Я.В. Нужна, головний експерт Науково-
дослідного експертно-криміналістичного центру
при УМВС України в Кіровоградській області

ТОКСИКОЛОГІЧНА ЕКСПЕРТИЗА БІОЛОГІЧНИХ І МЕДИЧНИХ ЗРАЗКІВ НА ВМІСТ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Розглянуто загальні етапи та основи експертизи біологічних і медичних зразків, описано методологію вибору та використання методів дослідження, наведено сучасні прискорені комбіновані фізико-хімічні методики кількісного визначення низки металів.

Вперше запропоновано схему комбінованої дії фізичних полів з поетапним використанням ультразвукового та мікрохвильового випромінювань під час пробопідготовки твердих біологічних і медичних зразків, що дозволило скоротити час їх аналізу у 8 разів.

Ключові слова: токсикологічна експертиза, медичні зразки, метали.

Рассмотрены общие этапы и основы экспертизы биологических и медицинских образцов, описана методология выбора и использования методов исследования, представлены современные ускоренные комбинированные физико-химические методики количественного определения ряда металлов.

Впервые предложена схема комбинированного действия физических полей с поэтапным использованием ультразвукового и микроволнового излучения при пробоподготовке твердых биологических и медицинских образцов, что позволило сократить время их анализа в 8 раз.

The general steps and fundamentals of examination of biological and medical samples are outlined as well as the methodology of selection and application of research methods. Modern physical and-chemical methods of quantitative examination of a number of metals are described.

The scheme of combined action of physical fields with application of ultrasonic and microwave radiation for the preparation of solid biological and medical samples is presented, which reduced the time of analysis 8 times.

Одним із сучасних завдань токсикології є дослідження впливу токсикантів на екологічні системи та окремі організми. З року в рік зростає кількість об'єктів експертизи екотоксикологічної хімії. Основною ознакою такої експертизи сьогодні є необхідність проведення багатоелементного аналізу в широкому діапазоні концентрацій — від слідових кількостей до максимальних. За часом експозиції та накопиченням в організмі одними з небезпечних токсикантів є важкі метали, а отже, вдосконалення методів експертизи об'єктів навколишнього середовища, а також методів виявлення та кількісного визначення металів у біологічних і медичних зразках є особливо актуальним.

Вибір аналітичних методів експертизи на вміст хімічних елементів зумовлюється метою аналізу — досягти мінімуму негативних і максимуму позитивних результатів, що пов'язано з такими головними параметрами аналізу, як чутливість і специфічність.

Під час проведення аналізу об'єктів як біологічного, так і небіологічного походження існує кілька джерел похибок, передбачення яких дозволяє значно підвищити надійність аналізу. Одними з найголовніших є:

- техніка експерименту;
- підготовка зразка, особливо багатоетапна;
- методи зберігання біоб'єкта та зразка;
- розрахункові похибки;
- суб'єктивні чинники аналітика.

Складність аналізу загалом визначають органічною матрицею біологічних і медичних зразків, яку потрібно зруйнувати для ізоляції металів і можливості подальшого інструментального їх визначення. На надійність і точність результатів аналізу впливають усі процедури та всі етапи роботи зі зразками.

Усі операції аналізу поділяють на два етапи: попередній, який містить відбір проби, транспортування, зберігання, гомогенізацію (у разі потреби) та відбір аліквоти, й аналітичний — обробка-мінералізація, вимірювання аналітичного сигналу та статистична обробка результатів аналізу. Різниця схем процесу аналізу для проб різного типу зумовлена складом їх органічних матриць. При цьому для зразків усіх видів проводиться низка послідовних рівнозначних операцій. Контроль кожної операції аналітичного процесу слід здійснювати за допомогою таких типових заходів:

- застосування еталонних зразків;
- калібрування проведених операцій (перевірка правильності);
- статистична обробка (перевірка відтворюваності);
- контроль за умовами проведення процесу (рН, температура тощо).

Достовірність хімічного аналізу багато в чому залежить від попередньої підготовки зразків, оскільки помилки на цьому етапі можуть призвести до отримання недостовірних результатів. Особливе значення має і техніка проведення операцій: використання реактивів особливої чистоти, а також посуду та інструментів, які відповідають вимогам проведення токсикологічного аналізу. Слід зазначити, що чим нижчою є визначувана концентрація токсиканта, тим вищими є вимоги до

лабораторії та техніки проведення відповідного аналізу. Загальну схему та основні етапи хіміко-токсикологічного аналізу біологічних і медичних зразків наведено на рис. 1.

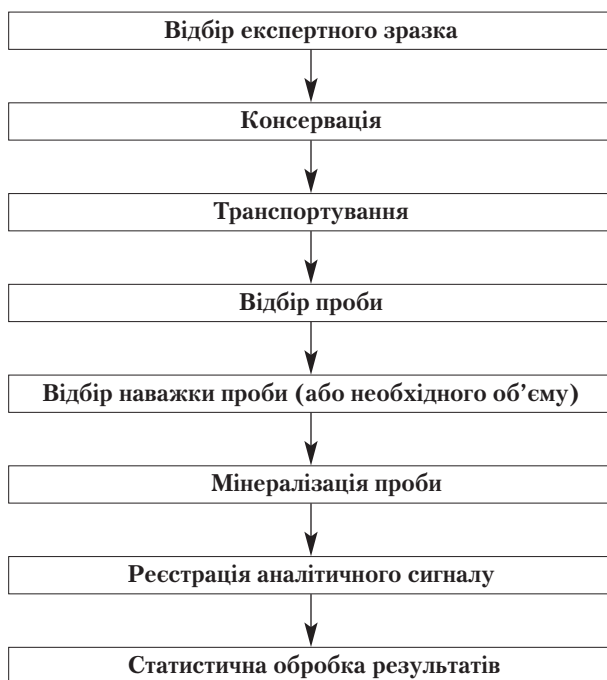


Рис. 1. Схема та основні етапи хіміко-токсикологічного аналізу біологічних і медичних об'єктів за класичними методами

Одним з основних завдань токсикологічної хімії (крім підвищення чутливості, точності, відтворюваності) є розробка методик, які дозволяють суттєво спростити та прискорити аналітичний етап лабораторного дослідження. Для визначення вмісту мікроелементів використовують різні методи:

- хроматографічні (газова, вискоефективна рідинна, тонкошарова хроматографії, капілярний електрофорез);
- спектральний аналіз (атомно-абсорбційна, атомно-емісійна спектроскопія, спектрофотометрія);
- вольтамперометрія тощо.

Кілька прямих методів визначення (флуоресценція, нейтронна активація, термогравіметрія) дозволяють проводити дослідження зразків без попередньої підготовки [1—14]. Навіть у разі використання надчутливого методу результати скринінгу слід перевірити та підтвердити за допомогою аналітичних методів, що базуються на інших фізико-хімічних принципах. Під час вибору як попереднього, так і підтверджувальних методів дослідження слід керуватися чинниками експресності, трудомісткості, простоти виконання аналізу, доступності методу, обладнання, реактивів. У разі вибору аналітичного методу слід пам'ятати, що особливості об'єктів експертизи роблять найбільш пріоритетними емісійні та атомно-абсорбційні методи, однією з переваг яких є можливість отримання аналітичного сигналу за лічені секунди.

У різних оглядах і монографіях детально розглянуто методологію і техніку пробовідбору та аналізу дослідження біозразків на вміст токсикантів (прискорена екстракція розчинниками, стимульована мікрохвильовим полем автоматизована високоефективна рідинна хроматографія, багатомірна газова хроматографія тощо) [1—9].

Слід зазначити, що попередня підготовка біомедичних зразків, необхідна для проведення аналізу інструментальними методами, доволі тривала і трудомістка. Вдосконаленню та підвищенню експресності процесу пробопідготовки, що лімітує час проведення аналізу шляхом підбору оптимальних умов проведення мінералізації зразків, присвячено велику кількість досліджень [7—15]. Головною метою цієї стадії є кількісне переведення у розчин визначальних елементів із запобіганням втрати летких компонентів та агресивних речовин, і найголовніше — раціональне поєднання з інструментальними методами. Підготовка зразків за класичними схемами передбачає їх очищення, висушування та розкриття (розкладання в кислотах, випаровування, а інколи й озолення), що тривають 2—11 год, при тому, що час самого аналізу становить 2—3 хв. Найдовша операція — мінералізація зразка (розчинення у кислотах) займає від 30 хв до 8 год [16—19].

З метою вдосконалення пробопідготовки застосовують мікрохвильове випромінювання (далі — МХВ) як для нагріву хімічних середовищ, так і для спрямованої зміни їх структурного стану, що суттєво впливає на тривалість мінералізації зразків. Вивчення та оцінка методик мікрохвильової пробопідготовки свідчать про їх перевагу над класичними методами хімічної деструкції у відкритих системах, особливо стосовно аналізу великої кількості проб. Комбінація мікрохвильової дії з підвищеним тиском дозволяє швидко розігрівати полярні розчинники та проводити хімічні реакції при температурі до 200 °С. Загалом використання мікрохвильових мінералізаторів має низку переваг (ефективність, можливість контролювати перебіг процесу, підвищення безпеки та екологічності аналізу), що зумовлює їх широке впровадження у практику багатьох лабораторій.

Ефективність використання мікрохвильового випромінювання для різних біологічних і медичних проб залежить від їх кількісного складу, особливо від вмісту вологи (адже вода — один з основних компонентів проби, що зумовлює прискорювальну дію фізичного поля) [20; 21]. Під дією мікрохвиль у тканинах і середовищах зразків відбувається зміна структури системи «біополімер — вода». Класифікація біомедичних проб за вмістом води дозволила умовно поділити їх на три групи: рідкі (вміст води у межах 90—99 %), м'які (50—75 %) та тверді (2—40 %), а також спрогнозувати параметри мікрохвильової дії, що визначають величину енергії, яку поглинають зразки до повного руйнування їх органічної матриці.

Розглядаючи мікрохвильову дію на білкові матриці проб, можна виокремити два механізми їх деструкції: фізичний і хімічний. Фізичний механізм пов'язаний з руйнуванням структури полімеру, коли під дією мікрохвиль імпульс ефективно передається атомам або фрагментам молекули та вибиває їх з молекулярної структури. За хімічного механізму деструкції відбувається перебіг реакцій на поверхні полімеру, особливо радикалів, які утворюються внаслідок дії фізичного поля. Отже, за двома механізмами фактично відбувається адресне подання енергії нагріву, що значно підвищує повноту розкладання зразків і суттєво впливає на тривалість і точності аналізу.

Низку сучасних праць присвячено ефективності використання фізичних полів іншої природи, зокрема ультразвукового, для прискорення та вдосконалення прободготовки. Ультразвукова активація — один із сучасних способів прискорення перебігу хімічних реакцій [22]. Внаслідок дії ультразвукових хвиль відбувається «збудження» більшості молекул і атомів до високоенергетичного (excited) стану. Ультразвукове опромінювання рідин призводить до унікальної взаємодії енергії та матерії за рахунок ефекту акустичної кавітації [23] (наприклад, ультразвукові ванни використовують під час підготовки екологічних, біологічних проб і продуктів харчування [24]). Крім того, застосування ультразвуку дозволяє скоротити обсяги реактивів. Метод характеризується низькою енергомісткістю, безпекою та компактністю. Ще однією перевагою дії ультразвуку є можливість його використання за кімнатної температури та атмосферного тиску. Емульгування та диспергування реагентів в ультразвуковому полі значно інтенсифікує гетерогенні реакції за рахунок збільшення поверхні їх перебігу та дозволяє підвищити відсоток речовин, які реагують.

Відомо, що у разі ультразвукового опромінювання органічних рідин будуть генеруватися вільні радикали. Вступаючи у взаємодію один з одним, вони утворюють нові молекули та фрагменти, які дифундують в об'ємі рідини та мають окислювальні властивості. При цьому деструкція полімерів відбувається завдяки розподіленню молекулярної ваги з розривом полімерного ланцюга. Ці ефекти дозволили прискорити прободготовку деяких біологічних зразків, зокрема тканин риб і мідій [25], низки зразків сільськогосподарської сировини [26]. Використання комбінованої дії окислювальної суміші та ультразвуку дозволяє досягти повного руйнування органічних матриць твердих біологічних проб і провести аналіз великої кількості зразків зі значним скороченням часу аналізу.

Природа об'єктів та методики їх аналізу значно різняться, тому сфера застосування ультразвукового поля під час прободготовки доволі мало досліджена. Для біологічних і медичних зразків необхідно адаптування ультразвукової та мікрохвильової дії з урахуванням особливостей будови та складу їх органічних матриць.

Експериментальна частина

Експериментально було встановлено ефективність використання дії фізичних полів на різних етапах прободготовки:

– дії МХВ під час висушування рідких проб, зокрема фракцій крові та нерозбавленої крові;

– дії ультразвуку невеликої інтенсивності при очищенні твердих зразків, проведення мікрохвильової та ультразвукової мінералізації зразків усіх видів.

При цьому було підібрано оптимальні параметри мікрохвильової та ультразвукової дій.

Визначення елементів проводили на атомно-абсорбційному спектрофотометрі (далі — ААС) С-115 ПКС і спектрометрі атомно-емісійному з індуктивно-зв'язаною плазмою (далі — АЕС з ІЗП) IRIS. Визначення вмісту мікроелементів здійснювали за допомогою державних стандартних зразків «ДСЗРМ» виробництва Фізико-хімічного інституту імені О.В. Богатського НАН України (м. Одеса).

Результати досліджень довели, що використання МХВ дозволяє скоротити тривалість висушування рідких і твердих зразків у 15 та 5 разів відповідно. У свою чергу, проведення МХВ-висушування твердих зразків підвищує якісні характеристики хімічного аналізу (табл. 1).

**Вміст нікелю в зразках крові (мкг/г)
при різних схемах пробопідготовки (n=3, P=0,95)**

№ з/п	Конвекційне висушування	Sr	Мікрохвильове висушування	Sr
1	0,21±0,03	0,04	0,21±0,03	0,04

Зважаючи на те, що ультразвук для мінералізації проб крові було використано вперше, необхідно було дослідити не тільки вплив параметрів ультразвуку (частота, інтенсивність і тривалість обробки), а й визначити оптимальні умови, за яких можна отримати максимальний ступінь вилучення елементів з мінералізаторів.

Було вивчено вплив дії ультразвуку на переведення металів з проби у розчин нітратної кислоти (1,0 М) під час мінералізації зразків еритроцитів і плазми крові. Зі зростанням часу впливу ультразвуку на систему «зразок — окислювач» вміст усіх металів у аналізованих розчинах поступово збільшується і набуває сталого значення після 12 хв. Окислювання органічної матриці проби відбувається за схемою:



де: *M* — катіони, *Y* — аніони з матриці, *X* — аніони з реагенту.

Під час експерименту підбрано також умови проведення етапу мінералізації під час елементного аналізу проб крові. Встановлено оптимальні параметри УЗ: інтенсивність 3,23 — Вт/см², частота — 22 кГц, час — 15 хв. У результаті доведено доцільність застосування ультразвукової дії на етапі мінералізації рідких біооб'єктів, що дозволило скоротити час проведення аналізу в цілому. На основі одержаних даних запропоновано прискорені схеми мінералізації проб крові та її фракцій [17].

Проведення аналізу зразків плазми крові із застосуванням мікрохвильової дії засвідчило, що ступінь вилучення металів зростає при ультразвуковій обробці мінералізаторів перед виміром аналітичного сигналу (рис. 2).

За результатами досліджень запропоновано схему підготовки зразків крові та її плазми з комбінованою дією фізичних полів: ультразвукова або мікрохвильова мінералізація з подальшою ультразвуковою обробкою отриманих мінералізаторів перед вимірюванням аналітичного сигналу.

Під час розробки методик пробопідготовки зразків м'яких тканин як чинник, який прискорює стадію пробопідготовки, використовували також комбінований фізико-хімічний вплив концентрованої нітратної кислоти і дії ультразвуку. Було доведено наявність прискорювальної дії ультразвуку на мінералізацію м'яких біомедичних зразків при визначенні кадмію, плюмбуму, нікелю за допомогою методів ААС та АЕС з ІЗП. Як свідчать результати експериментів, найповніше вилучення металів спостерігається за таких параметрів ультразвуку: інтенсивність — 3,95 Вт/см², частота — 22 кГц; час дії — 5—7 хв.

Також було досліджено можливість зменшення часу аналізу твердих біомедичних зразків (волосся). На відміну від проб, які знаходяться в іншому стані, алгоритм пробопідготовки твердих біомедичних зразків має дещо інший вигляд: додається

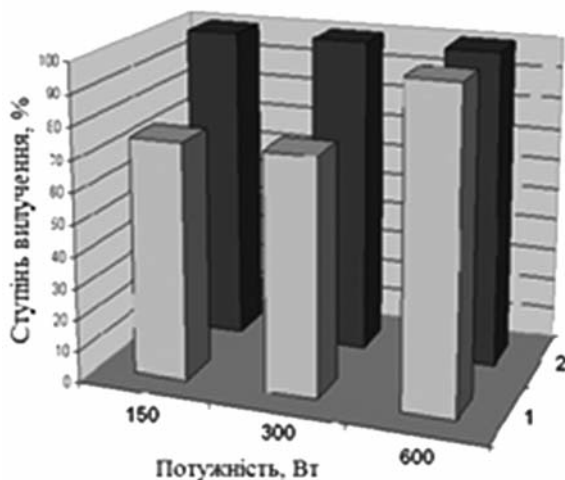


Рис. 2. Зміна ступеня вилучення нікелю зі зразків плазми крові при ультразвуковій обробці розчинів, отриманих у результаті мікрохвильової мінералізації:
1 — без обробки ультразвуком; 2 — з ультразвуковою обробкою

два порівняно тривалих етапи — очищення і висушування, скорочення яких дозволить значно зменшити час аналізу. У результаті було доведено ефективність використання короткочасної дії ультразвуку невеликої інтенсивності і частоти на етапі очищення медико-біологічних об'єктів. Встановлено, що використання дії ультразвуку дозволяє значно прискорити (до кількох хвилин) процес підготовки і очищення волосся перед мінералізацією, а згідно з методиками, які використовуються, необхідно 1,5—2 год. Оптимальні параметри дії ультразвуку для очищення зразків: інтенсивність — 1,1—1,2 Вт/см², час — 4—5 хв.

Процес повного руйнування органічної матриці зразків прискорювали дією ультразвукових коливань на систему. Було вивчено вплив часу, інтенсивності і частоти ультразвуку під час визначення вмісту хімічних елементів у пробах волосся [15; 27].

Результати проведених досліджень дозволили запропонувати схеми прискореної пробопідготовки біомедичних зразків з послідовною дією фізичних полів (рис. 3).

Проведені дослідження дозволили навести класифікацію біомедичних зразків та ефективність дії фізичних полів під час проведення пробопідготовки біомедичних зразків усіх видів (табл. 2).

Аналіз результатів дослідження засвідчив, що суттєве скорочення загального часу пробопідготовки під дією ультразвукового та мікрохвильового випромінювань відбувається за рахунок прискорення окремих її етапів (зокрема, для рідких зразків тривалість аналізу за стандартними методиками становить 6—8 год, а за прискореними методиками — 1,5—2 год). Отже, на основі проведених досліджень було вдосконалено окремі етапи аналізу, що в цілому дозволило значно скоротити час його проведення для зразків усіх видів.

Одержані результати свідчать про відмінність вмісту всіх визначуваних токсикантів у пробах тканин людей, що проживають у техногенному регіоні, порівняно з наявними даними літератури. Встановлено залежність між вмістом важких металів

та ознаками клінічних захворювань, що підтверджує можливість використання кореляції між мікроелементами для екотоксикологічної експертизи проб організму людини.

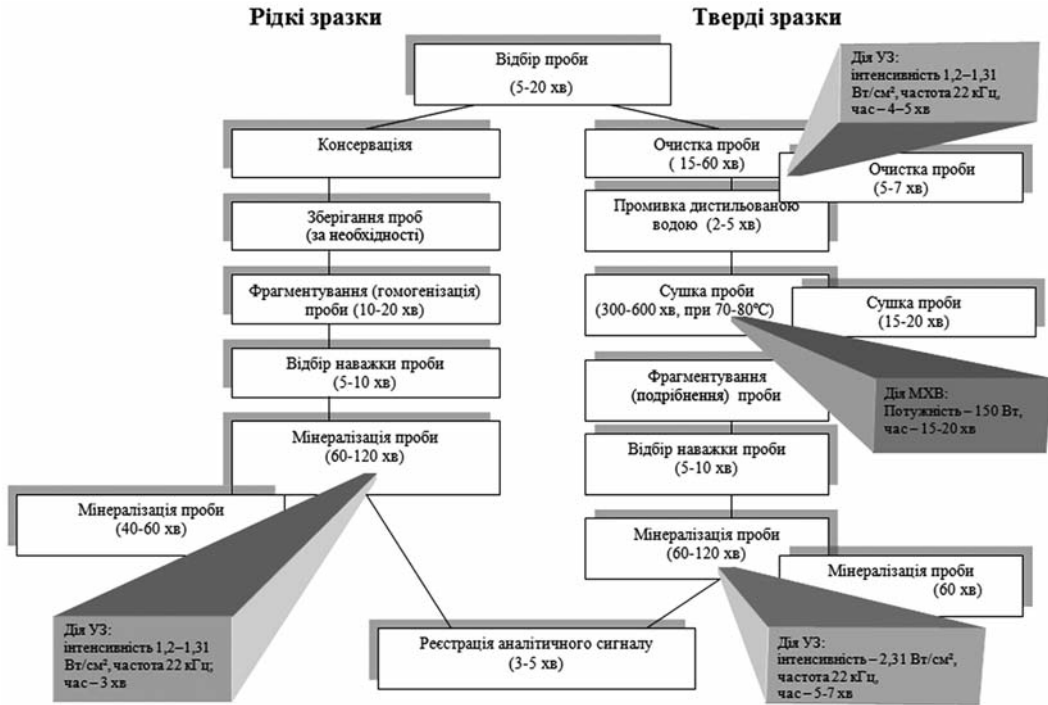


Рис. 3. Схеми прискореної пробопідготовки біологічних і медичних об'єктів з використанням комплексної дії фізичних і хімічних чинників

Таким чином, у результаті проведених досліджень було розглянуто загальні основи сучасної експертизи біологічних і медичних об'єктів; описано вимоги та особливості методів хіміко-токсикологічного аналізу і підвищення його експресності та точності; наведено основні напрями вдосконалення методик кількісного визначення металів-токсикантів у зразках навколишнього середовища та живих організмів; доведено ефективність використання комбінованої фізико-хімічної дії для прискорення низки операцій під час визначення металів у об'єктах екотоксикологічної експертизи.

Крім того, вперше запропоновано проведення систематизації біологічних і медичних об'єктів експертизи за агрегатним станом, зумовленим вмістом води, встановлено параметри дії фізичних полів для прискорення стадії пробопідготовки під час аналізу біологічних і медичних проб, а також запропоновано схему комбінованої дії фізичних полів з поетапним використанням ультразвукового та мікрохвильового випромінювань під час пробопідготовки твердих біологічних і медичних зразків, що дозволило скоротити час їх аналізу у 8 разів.

Таблиця 2

Класифікація біомедичних об'єктів, доцільність і ефективність використання фізичних полів під час їх пробопідготовки

Етап пробопідготовки	Параметри дії полів	Час проведення етапу, хв	Час проведення етапу за стандартною методикою, хв
Рідкі біомедичні проби (вміст води 90–99 %)			
Висушування (у разі потреби)	Дія МХВ: потужність – 300 Вт, час – 30 хв	30	120–300
Мінералізація	Дія УЗ: інтенсивність – 3,2 Вт/см ² , частота – 22 кГц час – 10 хв	10	30–120
М'які біомедичні проби (вміст води 50–75 %)			
Мінералізація	Дія УЗ: інтенсивність – 1,2 – 1,3 Вт/см ² , частота – 22 кГц, час – 3 хв	30–40	40–120
Тверді біомедичні проби (вміст води 2–40 %)			
Очищення	Дія УЗ: інтенсивність – 1,2 – 1,3 Вт/см ² , частота – 22 кГц, час – 4–5 хв	5–10	15–60
Висушування	Дія МХВ: потужність – 150 Вт, час – 15–20 хв	15–20	300–600
Мінералізація	Дія УЗ: інтенсивність – 2,4 Вт/см ² , частота – 22 кГц час – 5–7 хв	60	90–120

Список використаної літератури

1. Карпов Ю.А. Методы пробоотбора и пробоподготовки / Ю.А. Карпов, А.П. Савостин. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. — 234 с.
2. Другов Ю.С. Анализ загрязненных биосред и пищевых продуктов / Ю.С. Другов, А.А. Родин. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. — 294 с.
3. Iyengar G.V. Elemental Analysis of Biological Samples. Principles and Practice / Iyengar G.V., Subramanian K.S., Woittiez J.R.W. — CRC Press : Boca Raton, 1997. — 255 p.
4. Пробоподготовка в микроволновых печах. Теория и практика / [ред. Г.М. Кингстона, Л.Б. Джесси]. — М. : Мир, 1991. — 336 с.
5. Johnson H.L. Trace element analysis in biological samples / H.L. Johnson, H.E. Sauberlich // In Prasad AS (ed): Clinical, Biochemical and Nutritional Aspects of Trace Elements. — N.-York : Alan R. Liss Inc., 1982. — P. 462–468.
6. Kubrakova I. Microwave-assisted sample preparation and preconcentration for ETAAS / I. Kubrakova // Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy. — 1997. — Vol. 52. — Iss. 9, 10. — P. 1469–1481.

7. *Dulski T.R.* Trace elemental analysis of metal. Methods and techniques / T.R. Dulski. — N.-York : Marcel Dekker Inc, 1999. — 581 p.
8. *Седых Э.М.* Микроволновое разложение биологических объектов для последующего атомно-абсорбционного и атомно-эмиссионного (с индуктивно связанной плазмой) анализа / Седых Э.М., Петровская И.Н., Матусиевич Г.П. и др. // Журнал аналитической химии. — 1991. — Т. 46. — № 2. — С. 292—299.
9. *Подготовка проб в условиях микроволнового нагрева* / Кубракова И.В., Мясоедова Г.,В., Еремин С.А. и др. // Методы и объекты химического анализа. — 2006. — Т. 1. — № 1. — С. 27—34.
10. *Микроволновое окисление органических веществ азотной кислотой* / Кубракова И.В., Формановский А.А., Кудинова Т.Ф. и др. // Журнал аналитической химии. — 1999. — Т. 54. — № 5. — С. 524—530.
11. *Шаршунова М.* Тонкослойная хроматография в фармации и клинической биохимии : в 2-х ч. / Шаршунова М., Шварц Б., Михалец Ч. — М. : Мир, 1980. — Т. 2. — 535 с.
12. *СВЧ-излучение как фактор интенсификации пробоподготовки. Анализ объектов с органической матрицей* / Кубракова И.В., Кудинова Т.Ф., Ставиненко Е.Б. и др. // Журнал аналитической химии. — 1997. — Т. 52. — № 6. — С. 587—593.
13. *Кузьмин Н.М.* Микроволновая пробоподготовка / Н.М. Кузьмин, И.В. Кубракова // Журнал аналитической химии. — 1996. — Т. 51. — № 1. — С. 44—48.
14. *Чмиленко Ф.А.* Атомно-абсорбционное определение металлов в крови / Чмиленко Ф.А., Саевич О.В., Смитюк Н.М. // Вопросы химии и химической технологии. — 2009. — № 2. — С. 95—101.
15. *Чмиленко Ф.О.* Прискорення етапів пробопідготовки біомедичних об'єктів / Чмиленко Ф.О., Саевич О.В., Коробов В.І. // Вопросы химии и химической технологии. — 2008. — № 6. — С. 106—111.
16. *Чмиленко Ф.А.* Особенности пробоподготовки образцов мягких тканей при определении металлов / Ф.А. Чмиленко, О.В. Саевич // Методы и объекты химического анализа. — 2010. — Т. 5. — № 1. — С. 14—18.
17. *Атомно-емісійне з індуктивно зв'язаною плазмою визначення металів у крові та її фракціях* / Чмиленко Т.С., Саевич О.В., Туришева О.В., Чмиленко Ф.О. // Вісник Дніпропетровського університету. Серія «Хімія». — 2009. — Вип. 15. — Т. 17. — № 3/1. — С. 10—14.
18. *Determination of trace copper, lead, cadmium, and iron in environmental and biological samples by flame atomic absorption spectrometry coupled to flow injection on-line coprecipitation preconcentration using DDTC-nickel as coprecipitate carrier* / J.S. Liu, X.Q. Mao, X. Jin and etc. // International Journal of Environmental Analytical Chemistry. — 2000. — Vol. 76. — № 4. — P. 267—282.
19. *Бок Р.* Методы разложения в аналитической химии / Р. Бок. — М. : Химия. — 1984. — 432 с.
20. *Рапли Дж.* Вода в полимерах / Рапли Дж., Янг П., Толпин Г. ; под. ред. С. Роуланда. — М. : Мир, 1984. — 555 с.
21. *Львов К.М.* Влияние воды и вторичной структуры на термостабильность макроциклов в белках / К.М. Львов, А.А. Исаков // Биофизика. — 1994. — Т. 39. — Вып. 5. — С. 757—760.
22. *Радж Б.* Применение ультразвука / Радж Б., Раджендран В., Паланичами П. ; пер. с франц. — М. : Техносфера, 2006. — 567 с.
23. *Чмиленко Ф.А.* Ультразвук в аналитической химии. Теория и практика : монография / Ф.А. Чмиленко, А.Н. Бакланов. — Днепропетровск : Изд-во Днепропетр. ун-та, 2001. — 264 с.
24. *Priego-Capote F.* Ultrasound-assisted digestion: A useful alternative in sample preparation / F. Priego-Capote, M.D. Luque de Castro // Journal of Biochemical and Biophysical Methods. — 2007. — Vol. 70. — № 2. — P. 299—310.
25. *Balarama Krishna M.V.* Ultrasound-assisted extraction procedure for the fast estimation of major, minor and trace elements in lichen and mussel samples by ICP-MS and ICP-AES / M.V. Balarama Krishna, J. Arunachalam // Analytica Chimica Acta. — 2004. — Vol. 522. — № 2. — P. 179—187.

26. *Nascentes C.C.* A fast ultrasound-assisted extraction of Ca, Mg, Mn and Zn from vegetables / *Nascentes C.C., Korn M., Arruda M.A.Z.* // *Microchemical Journal*. — 2001. — Vol. 69. — № 1. — P. 37—43.

27. *Ускоренное атомно-абсорбционное определение тяжелых металлов в волосах* / [Чмиленко Т.С., Саевич О.В., Чмиленко Ф.А. и др.] // *Вісник Дніпропетровського університету. Серія «Хімія»*. — 2002. — Вип. 8. — С. 3—6.