

## Влияние матричных эффектов на результаты исследования химических элементов в биологических жидкостях методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой

© Т.К. Нурубейли,<sup>1,2</sup> А.М. Гашимов,<sup>1</sup> К.З. Нуриев,<sup>1</sup> С.И. Гасанова,<sup>1</sup> Н.Ш. Джафар,<sup>1</sup> О.Е. Имамвердиев<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Министерство науки и образования Азербайджанской Республики Институт физики, AZ-1143 Баку, Азербайджан

<sup>2</sup> Азербайджанский государственный университет нефти и промышленности, AZ-1010 Баку, Азербайджан

<sup>3</sup> Азербайджанская дипломатическая академия, AZ1008 Баку, Азербайджан

e-mail: t.nurubeyli@physics.science.az, kamilnuri@rambler.ru, sabina\_hasanova@yahoo.com, omarimamverdiyev13@gmail.com

Поступило в Редакцию 6 февраля 2023 г.

В окончательной редакции 11 мая 2023 г.

Принято к публикации 5 июня 2023 г.

Изучено влияние матричных эффектов на предел обнаружения отдельных компонентов, проведен сравнительный анализ результатов пробоподготовки методом разбавления и минерализации. Исследован ряд элементов в растворах для анализа методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Установлено, что причиной снижения пропускной способности ряда частей анализатора является уменьшение диаметров отверстий сэмплера и скиммера за счет органических растворителей. Предложены два способа снижения влияния органических компонентов анализируемых растворов на результаты анализа — микроволновое разложение и простое разложение. Рассмотрена возможность использования внутренних стандартов с целью получения правильных результатов путем устранения матричных эффектов.

**Ключевые слова:** биологическая жидкость, масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой, спектральные и неспектральные матричные эффекты, внутренний стандарт.

DOI: 10.21883/JTF.2023.08.55986.17-23

### Введение

В последнее время в медицине все больше внимания уделяется изучению роли микроэлементов в организме человека, поскольку избыток микроэлементов в организме человека или их недостаток в рационе вызывает серьезные заболевания [1]. Микроэлементы содержатся в белках, жирах, участвуют в обмене углеводов, иммунных реакциях. Проведенные исследования показывают, что увеличение количества макро- и микроэлементов в почве, воде и атмосферном воздухе соответствует увеличению уровня элементов в волосах и биологических жидкостях человека [2].

Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС), являющаяся одним из методов медицинской диагностики, позволяет выявить ряд заболеваний путем изучения уровня концентрации микроэлементов в биологических жидкостях организма человека. В настоящее время ИСП-МС занимает лидирующие позиции в области элементного анализа биологических объектов благодаря высокой чувствительности метода, а также возможности проведения многоэлементного анализа в широком диапазоне концентраций.

Преимущества ИСП-МС — многоэлементный анализ, низкие пределы обнаружения, короткое время анализа, малый объем анализируемых проб — делают его незаменимым при анализе биологических жидкостей. Послед-

нее связано, с одной стороны, с большей доступностью и производительностью метода, а с другой — с рекордно низким пределом обнаружения химических элементов и их изотопов, что требуется при исследовании аналитов с очень низкими концентрациями в образце [3].

Однако, как и любой аналитический метод, ИСП-МС имеет свои недостатки, такие, как спектральные и неспектральные матричные эффекты, непосредственно влияющие на результаты анализа. Эти эффекты при анализе проб сложного состава существенно повышают нижнюю границу определяемых элементов и осложняют правильность определения их в сложных биологических пробах [4,5]. За последние годы (10–15 лет) опубликовано немало работ по изучению вариантов анализа различных биологических проб методом ИСП-МС [6,7]. В зависимости от вида пробы, ее состава и пробоподготовки в ИСП-МС могут возникать множество специфических проблем, приводящих к искажению полученных результатов. Основной целью настоящей работы является исследование и устранение помех при анализе образцов крови и мочи больных с почечной недостаточностью методом ИСП-МС.

Таким образом, настоящая работа посвящена определению химических элементов в биологических образцах сложного состава с помощью ИСП-МС, а также пробоподготовке этих образцов различными методами

(прямое разбавление и кислотная минерализация), учету и снижению матричных эффектов, возникающих при анализе биологических жидкостей.

## 1. Условия эксперимента

### 1.1. Оборудование

Измерения проводились на ИСП-МС фирмы Agilent Technologies 7700 (США) при устойчивом режиме работы прибора [7–9].

В основе метода ИСП-МС лежит использование аргонной ИСП в качестве источника ионов и квадрупольного масс-спектрометра.

На рис. 1 изображена схема основных частей прибора на примере ИСП-МС Agilent 7700. Система ввода образца включает в себя перистальтический насос, распылитель, распылительную камеру. Раствор исследуемого вещества засасывается перистальтическим насосом со скоростью 0.1 ml/min. Из раствора образца получают аэрозоль, проходящий через двухпроходную распылительную камеру. Полученный из образца мелкодисперсный аэрозоль (выходящий из распылительной камеры) непосредственно попадает в трубку, направляющую аэрозоль в горизонтально установленную плазменную горелку. Газ, поступающий в трехцилиндровую плазменную горелку, называют плазмообразующим, вспомогательным газом и газом-носителем (подаваемым в распылитель). На конец горелки надета четырехвитковая катушка (индуктор), к которой подводится высокочастотный сигнал (27.12 МГц). После обогащения плазмы электронами в сильном высокочастотном поле обеспечиваются столкновения атомов аргона (т.е. поддерживается „горение“ плазмы). В центре плазмы достигается температура в диапазоне от 8000 до 10 000 К. Превращенный в аэрозоль образец мгновенно избавляется от растворителя и ионизируется. Далее происходит формирование пучка ионов анализируемого образца и введение его в масс-спектрометр через систему конусов и линз. Затем ионы попадают в квадрупольный анализатор. Только ионы со специфичным отношением массы к заряду ( $m/z$ ) спо-

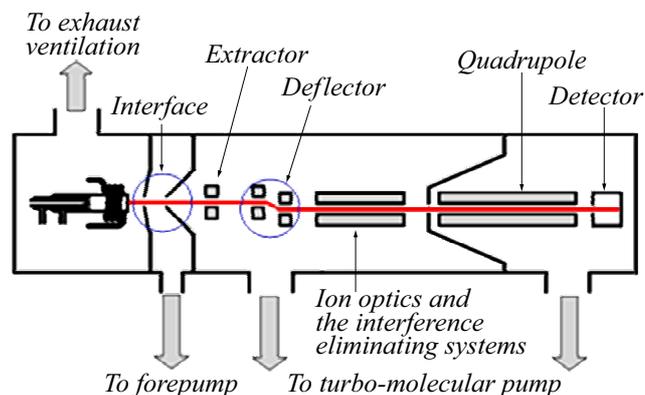


Рис. 1. Схема ИСП-МС Agilent 7700.

Таблица 1. Режим эксперимента

Плазма, мощность генератора, W	1450
Скорость потока аргона, l/min	1.2
Скорость подачи пробы, l/min	1
Масс-спектрометрическое разрешение, Da	0.2
Вакуум без плазмы, Torr	$4 \cdot 10^{-4}$
Динамическая ячейка, газ	Гелий
Время измерения, s	0.1–0.5

собны пройти через центр квадрупольного анализатора при специфичной комбинации приложенных напряжений.

В квадрупольном анализаторе обеспечивается очень быстрое (пилообразное) изменение напряжения, благодаря чему он способен сканировать весь диапазон масс (от 2 до 260 Da) за 100 ms. В результате масс-спектры, отображающие зависимость интенсивности от массы, могут быть зарегистрированы для всех элементов фактически одновременно. После прохождения через квадруполь ионы регистрируются электронным умножителем. В табл. 1 показаны некоторые данные настройки ИСП-МС при режиме эксперимента.

### 1.2. Пробоподготовка

Пробы минерализовались в микроволновой печи фирмы „Speedwave Xpert“ (Германия) с возможностью контроля температуры, оборудованной сосудами малого объема для работы с микронавесками. Во время эксперимента использовались дозаторы объемом 100–1000  $\mu$ l и 1–10 ml производства Pipet4u и Eppendorf (Германия), одноразовые наконечники и полипропиленовые пробирки объемом 15 и 50 ml.

Растворы сравнения готовили последовательным разбавлением основного раствора. В качестве основы были использованы стандартные растворы, содержащие 32 элемента с концентрацией 10 mg/l (производство High Purity Standards, USA). При изучении влияния матричных элементов применялись стандартные одноэлементные растворы Na, K, Ca. Внутренние стандарты Rh, In, Sc, Ge (High Purity Standards, США) приготавливались с концентрацией 1 mg/l.

Для минерализации образцов и приготовления градуировочных растворов были использованы 65%-ная азотная кислота ( $\text{HNO}_3$ ) и 30%-ная перекись водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) фирмы Suprapur (Merck, Германия). Все растворы разбавляли деионизированной водой (18.2 М $\Omega$ -см).

Прибор был градуирован калибровочными растворами Calibration Standards при заданном объеме от 1 до 50 ppb, и на выходе получали соответствующие прямые.

У пациентов в возрасте 30–40 лет с почечной недостаточностью, часто проводящих гемодиализ, отбирали образцы крови и мочи в одноразовые пробирки из полиэтилена. Мочу разбавляли азотной кислотой (концентрация  $\text{HNO}_3$  0.4 ml на 20 ml пробы).

**Таблица 2.** Режим минерализации проб для мочи и крови

Номер шага	Температура, °С	Время, min
1	15–80	4
2	80–160	3
3	160–190	5
4	190–210	14

Цельная кровь представляет собой наиболее сложную по составу биологическую жидкость с высоким содержанием как неорганических, так и органических веществ. Для консервирования крови использовалась смесь ЭДТА–HNO<sub>3</sub>. Пробы мочи и крови после отбора хранили несколько дней в холодильнике при температуре 2–4°С, затем анализировали, а жидкость для диализа растворяли в 0.2% азотной кислоте.

Пробы крови (0.5–1 ml) и мочи (1–2 ml) разлагали в микроволновой печи (МВ) с использованием концентрированных HNO<sub>3</sub> и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Режимы минерализации представлены в табл. 2.

Проведенные исследования показали, что при высокой температуре и при длительном времени минерализации проб некоторые легколетучие элементы испарялись, поэтому был выбран оптимальный режим работы минерализации проб: для крови — номер шага 3, а для мочи — 2.

В подготовленные для измерения растворы добавляли внутренние стандарты с концентрацией соответствующего элемента 20–50 µg/l.

## 2. Результаты и их обсуждение

Как известно, кровь представляет собой вещество, состоящее из большого количества органических соединений, и для ее анализа методом ИСП-МС применяют различные способы пробоподготовки. Однако вне зависимости от методов пробоподготовки, не вся органическая масса разлагается на составляющие, что, в свою очередь, вызывает осаждение солей или оксидов в ионно-оптической системе масс-спектрометра, в том числе на поверхности конусов и горелки. Соли, адсорбированные на поверхности конусов, в первую очередь уменьшают диаметры их отверстий, что приводит к снижению пропускной способности устройства [3]. Кроме того, чрезмерное поступление органических растворителей (выше 0.2%) может вызвать значительное изменение термических характеристик плазмы, в первую очередь — снижение ее температуры, так как на испарение и диссоциацию этих веществ расходуется дополнительная энергия.

Поэтому, чтобы уменьшить влияние составляющих, были изучены два различных метода пробоподготовки: прямое разбавление и микроволновое разложение анализируемых образцов. Метод прямого разбавления имеет ряд преимуществ: простота анализа проб в течение

короткого времени, дешевизна, минимальное загрязнение пробы и т.д. Однако этот тип пробоподготовки может привести к выходу из строя некоторых частей масс-спектрометра, в первую очередь — шлангов для отбора проб, и закупорке отверстий конусов. Все это усиливает действие матричных эффектов (спектральных и неспектральных) за счет составляющих нерастворимых солей [10,11]. Однако, несмотря на указанные минусы, этот способ пробоподготовки довольно часто применяется на практике, благодаря возможности приготовления в короткий срок множества проб, необходимых в медицинских лабораториях [12–14]. Окислительная минерализация также широко используется в элементном анализе биожидкостей [15–18], прежде всего цельной крови [19,20], из-за возможности удаления сложной органической матрицы и снижения биологической опасности при работе с такими объектами. Однако у этого типа пробоподготовки есть и ряд недостатков: это разное программное обеспечение для определенной пробы, длительное время подготовки проб (3–4 h), увеличение загрязнения пробы при добавлении дополнительных растворов, использование большого количества анализируемого вещества, потеря некоторых элементов, в первую очередь легколетучих и т.д.

Проведенные исследования показали, что при обоих пробоподготовках в диализатах концентрация некоторых элементов с малой атомной массой не меняется, а концентрация элементов сравнительно с большей атомной массой увеличивается в 2–3 раза. Обнаружено, что по сравнению с анализом микроволнового разложения при простом разбавлении концентрация меди возросла более чем в 2 раз, цинка — более чем в 1.6 раз, стронция — в 2 раза (рис. 2, а), что объясняется наличием спектральных матричных помех, влияющих на результаты анализа.

В целом спектральные матричные эффекты чаще всего проявляют себя во время пробоподготовки, и поэтому в большинстве случаев для устранения этого эффекта используются приборы, оснащенные столкновительными ячейками, расположенными после ионно-оптической системы ИСП-МС. Часто столкновительные ячейки обогащаются газообразным гелием (He), редко используется водород (H<sub>2</sub>) или аммиак (NH<sub>3</sub>).

Спектральные матричные эффекты могут быть подразделены на:

- 1) изобарные интерференции — наложение сигналов изотопов различных элементов, близких друг к другу по массам;
- 2) многозарядные атомы, соответствующие значению  $m/q$  масс атомов других элементов;
- 3) полиатомные (многоатомные) ионы, т.е. наложение аналитических сигналов многоатомных ионов на сигнал аналитов одинаковой массы.

Самые сильные спектральные эффекты в ИСП-МС создают многоатомные (полиатомные) ионы, устранение (или уменьшение) которых является актуальной задачей масс-спектрометрии.

В индуктивно связанной плазме имеются различные типы полиатомных ионов, вызывающих спектральные помехи:

1) фоновые полиатомные ионы, образованные исключительно компонентами плазменного газа, прилегающего атмосферного воздуха и воды (Ar, C, H, O, N);

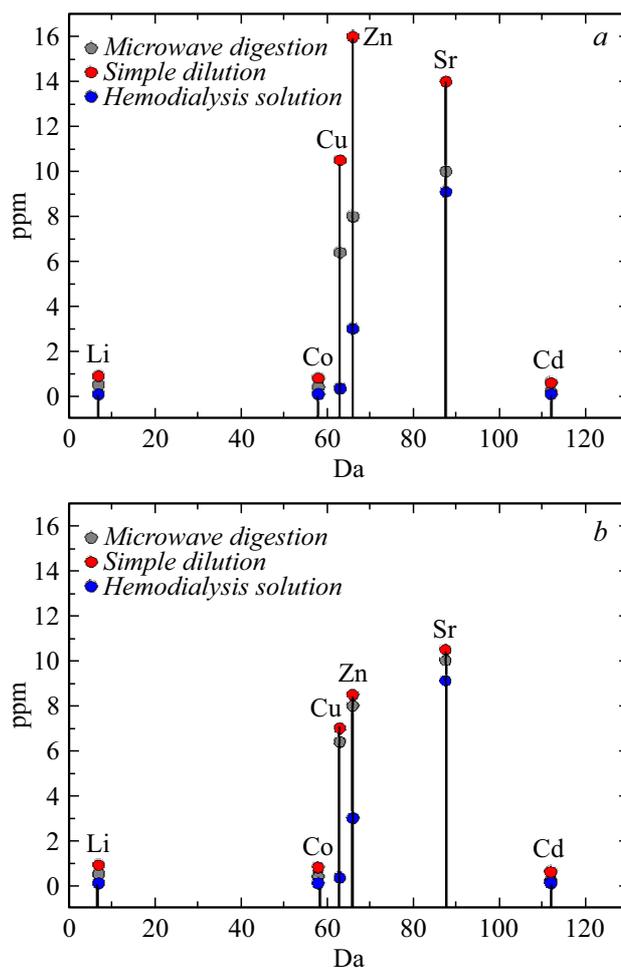
2) полиатомные ионы, образованные только компонентами растворенной пробы. В первую очередь, в данную группу необходимо отнести оксидные  $MO^+$ , гидроксидные  $MOH^+$  и гидридные ионы  $MH^+$  элементов, входящих в состав пробы (M — элемент, входящий в состав анализируемого образца);

3) полиатомные аргонсодержащие ионы, образованные компонентами пробы и плазмообразующего газа (аргиды):  $ArCl^+$ ,  $ArS^+$ ,  $ArF^+$ ,  $ArM^+$  и т.д.

Например, образование оксидных полиатомных ионов объясняется тем, что атомы кислорода, поступающие из воздуха и кислот, используемые при растворении пробы и находящиеся в самой пробе, впоследствии попадают в индуктивно-связанную плазму, где при высокой температуре (10 000 К) соединяются с атомами аргона или с другими ионами, масса которых схожа с атомными массами аналитов (гидридов, оксидов и т.д.). Например, на сигнал  $^{63}Cu$  мешающими интерферентами могут быть  $^{23}Na^{40}Ar^+$ ,  $^{47}Ti^{16}O^+$  [21–23]; на  $^{66}Zn$  —  $^{32}S^{16}O^{18}O$ ,  $^{32}S^{17}O_2^+$  [21,22]; на  $^{88}Sr$  —  $^{72}Ge^{16}O^+$ ,  $^{40}Ar^{48}Ca^+$  [22] и т.д.

На рис. 2 показана концентрация элементов в диализатах без и с использованием столкновительной ячейки в зависимости от условий пробоподготовки. Наилучшим способом подавления спектральных помех является использование газа гелия в качестве буфера в столкновительной ячейке. Также определяли оптимальную скорость потока гелия, которая составляла 3 ml/min. Из рис. 1, b видно, что после добавления газа гелия в ИСП-МС получено понижение влияний интерференции нескольких сигналов (рис. 2). Суть метода заключается в том, что до входа ионного пучка в масс-анализатор они сталкиваются с ионами гелия, где последние соударяются с крупными молекулярными ионами, имеющимися в пучке, и реже — с ионами металлов с меньшим диаметром, в результате чего уменьшается интенсивность потока молекулярных ионов, попадающих на детектор.

Из проведенных экспериментов также было выявлено, что при диализе большое количество важных элементов, таких, как медь, цинк, железо и др., вымываются из организма человека. Выделение этих элементов из организма человека в больших количествах приведет к их дефициту, что может сказаться в первую очередь на ослаблении иммунной системы больного. Медь является важным элементом для жизнедеятельности человека, и большая ее часть содержится в сердце, почках и печени. Медь также способствует усвоению организмом железа и играет важную роль в производстве энергии, а недостаток меди в организме увеличивает вероятность простудных и других заболеваний, возникновение хрупкости костей и проблем с движением. При недостатке



**Рис. 2.** Концентрация элементов в диализатах в зависимости от условий пробоподготовки без (a) и с использованием столкновительной ячейки (b).

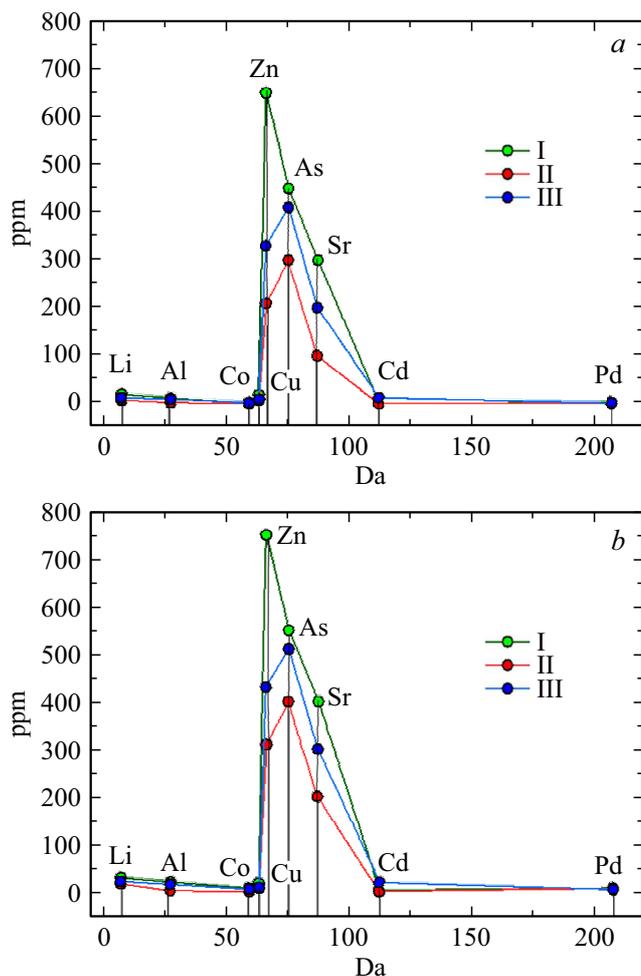
цинка в организме происходит неврологическое нарушение, снижается острота зрения, ухудшается состояние кожных покровов [24]. Полученные результаты дадут возможность врачам восстанавливать потерянные при диализе содержания элементов в организме пациентов, и при этом появляется возможность избежать побочных нарушений при проведении гемодиализа.

Моча является высококонцентрированным солевым раствором с заметным содержанием солей органических кислот. В ходе работы мочу подготавливали двумя способами. Проведенные исследования показали, что результаты обоих методов почти одинаковы, и это еще раз доказывает практичность метода прямого разбавления. Образцы мочи собирали у добровольцев трех разных возрастных групп в одноразовые полипропиленовые пробирки, а затем добавляли 65% азотную кислоту, тем самым разбавляя их в 10–20 раз деионизированной водой и потом анализировали.

Как мы уже упоминали выше, недостатком прямого разбавления является наличие нагара на поверхности горелки, сэмплера и скиммера. Это вызвано тем, что

неполное растворение компонентов в моче и крови создает диэлектрический слой положительных ионов на поверхности конусов, что, в свою очередь, искажает траекторию ионов, прошедших через эти конусы. Для устранения этого эффекта достаточно добавить в аргонную плазму 1–5% газообразного кислорода. В ходе экспериментов стало ясно, что путем добавления газообразного кислорода можно устранить неспектральный матричный эффект и увеличить время эксплуатации конусов. Дело в том, что кислород, добавляемый в аргонную плазму, вступает в реакцию с органическими соединениями, разрушая их и создавая соединения с меньшей атомной массой, которые легко проходят через отверстия пробоотборных конусов и попадают в ионно-оптическую систему.

На рис. 3 показаны результаты анализа состава мочи трех пациентов до (рис. 3, *a*) и после (рис. 3, *b*) добавления кислорода. Из рисунка видно, что после добавления кислорода концентрация элементов возросла. Это значит, что увеличилось число ионов, проходящих через конусы, и уменьшилось количество осажденных органических соединений на поверхности конусов.



**Рис. 3.** Результаты анализа состава мочи трех пациентов до (*a*) и после (*b*) добавления кислорода.

Известно, что традиционным биоматериалом, используемым в медико-биологических исследованиях, является кровь. В литературе описано несколько методов подготовки крови к анализу [10,25,26]. Как известно, кровь обогащена множеством органических соединений, и анализировать ее напрямую было бы неправильно. Поэтому, чтобы получить более точный результат и уменьшить влияние неспектрального матричного эффекта в ИСП-МС, рекомендуется анализировать кровь с внутренними стандартами (ВС) [27]. Основными критериями выбора ВС являются:

- 1) его отсутствие в анализируемом образце;
- 2) несовпадение атомной массы изотопа с массой аналита;
- 3) близость его потенциала ионизации (ПИ) к ПИ аналита;
- 4) отсутствие его изотопа в анализируемом веществе и т.д.

Это указывает на сложность выбора ВС, особенно при анализе биологических жидкостей. Поэтому необходимо идти на компромисс.

Добавление большего количества ВС также может привести к загрязнению пробы и вызвать спектральные и в основном неспектральные помехи. Авторы работ [28,29], которые иногда рекомендуют использовать многоатомные ионы, формируемые из плазмообразующего газа или матрицы анализируемого раствора, такие, как  $Ar^{2+}$ ,  $ArO^+$ ,  $N^{2+}$ ,  $ClO^+$ ,  $SO^+$ ,  $MO^+$ , где М — это атом анализируемого элемента, применяют целую группу ВС. В связи с тем, что полный отказ от ВС может привести к инструментальному дрейфу, рекомендуется использование как минимум одного ВС. Поскольку для аналитов с разной атомной массой сложно подобрать один ВС, некоторые авторы рекомендуют изменить параметры прибора, увеличив мощность генератора и уменьшив скорость потока аргона через распылитель, в зависимости от его модели, чтобы получить более точные результаты [25]. Из проведенных экспериментов стало ясно, что после настройки прибора можно выбрать один ВС для аналитов с разной атомной массой независимо от их физико-химических свойств. В качестве ВС часто выбирают родий (Rh), так как он мало распространен в природе и свободен от изобарного наложения. Природный родий состоит из одного стабильного изотопа  $^{103}Rh$ . Таким образом, природный родий является практически изотопно-чистым элементом.

На рис. 4 представлены измерения элементов в крови „введено-найденно“ как с использованием ВС (Rh), так и без него. Из рис. 4 следует, что для ряда элементов, таких, как Mn, Ag, Cd, Sb, Pb, Bi без использования ВС получены заниженные результаты, что, по-видимому, связано с проявлением спектрального матричного эффекта. Чтобы удостовериться в правильности результатов, в качестве ВС нами были выбраны два элемента.

В первом случае в пробу в качестве ВС был добавлен элемент натрия Na в концентрации 100 мМ. В результате эксперимента было выявлено, что эти добавки не при-

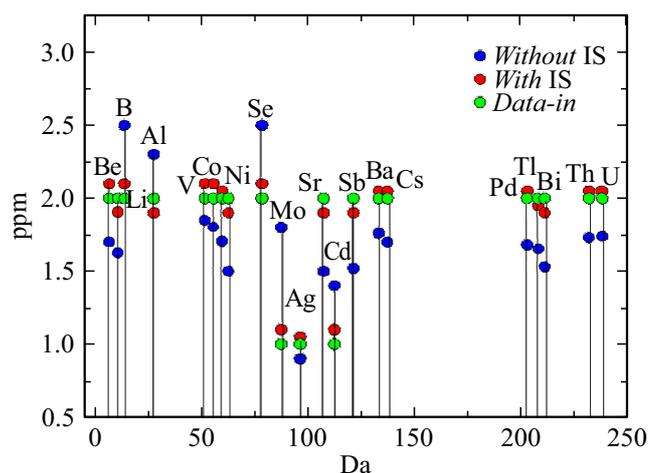


Рис. 4. Измерения элементов в крови „введено-найденно“ как с использованием ВС (Rh), так и без него.

вели ни к каким изменениям результатов. Во втором случае в пробу добавили родий, и полученные результаты были близки к истинному составу калибровочного раствора. Это явление можно объяснить тем, что введение большого количества натрия в первую очередь изменяет температуру плазмы, кроме того, атомы натрия имеют невысокий потенциал ионизации и, попадая в высокотемпературную плазму, быстро ионизируются, увеличивая тем самым концентрацию электронов. При этом плазма обогащается электронами, нейтрализуя путем рекомбинации ионы элементов с более высоким потенциалом ионизации, в результате чего снижается температура плазмы и количество положительных ионов.

### 3. Выводы

Результаты анализов показали, что:

- спектральные матричные помехи, возникающие при анализе биологических жидкостей, можно устранить или, по крайней мере, учесть путем добавления газа гелия в ИСП-МС. Это приводит к приближению результатов проб, полученных как микроволновым путем, так и простым разбавлением;

- вымывание некоторых элементов (например, меди и цинка) из организма человека при проведении гемодиализа может привести к ослаблению иммунной системы. Полученные в работе результаты позволяют восстановить потерянные элементы в организме пациентов;

- мочу можно анализировать без минерализации, при этом перед измерениями пробу необходимо разбавлять в 10 раз деионизированной водой;

- элементы органических веществ, осевших на поверхности конусов, создают поле, меняющее траекторию ионов;

- добавление 1–3% кислорода в аргоновую плазму минимизирует неспектральные матричные помехи;

– кровь является основным биоматериалом в медико-биологических исследованиях органических веществ, поэтому для получения точных результатов при подготовке анализируемых растворов необходимо использовать ВС (например, родий).

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### Список литературы

- [1] А.А. Кожин, Б.М. Владимирский. Экология человека, **20** (9), 56 (2013). DOI: 10.17816/humeco17318
- [2] B. Bocca, A. Alimonti, O. Senofonte, A. Pino, N. Violante, F. Petrucci, G. Sancesario, G. Forte, J. Neurological Sci., **248** (1–2), 23 (2006). DOI: 10.1016/j.jns.2006.05.007
- [3] Т.К. Нурубейли, К.З. Нуриев, З.К. Нурубейли. ЖТФ, **89** (6), 965 (2019). DOI: 10.21883/JTF.2019.06.47745.2451 [Т.К. Nurubeyli, K.Z. Nuriyev, Z.K. Nurubeyli. Tech. Phys., **64** (6), 909 (2019). DOI: 10.1134/S1063784219060148]
- [4] J.S. Park, J.Y. Ryu, H.-K. Jeon, Y.J. Cho, Y.A. Park, J.-J. Choi, J.-W. Lee, B.-G. Kim, D.-S. Bae. J. Gynecol. Oncol., **23** (3), 190 (2012). DOI: 10.3802/jgo.2012.23.3.190
- [5] M. Kantola, R. Purkunen, P. Kröger, A. Tooming, J. Juravskaja, M. Pasanen, K. Seppänen, S. Saarikoski, T. Vartiainen. Environmental Res., **96** (1), 51 (2004). DOI: 10.1016/j.envres.2004.03.003
- [6] R. Brodzka, M. Trzcinka-Ochocka, B. Janasik. Intern. J. Occupational Medicine and Environmental Health, **26** (2), 302 (2013). DOI: 10.2478/s13382-013-0106-2
- [7] D. Dudek-Adamska, T. Lech, T. Konopka, P. Kościelniak. Biolog. Trace Element Research, **199**, 2138 (2021). DOI: 10.1007/s12011-020-02347-w
- [8] Т.К. Нурубейли. ЖТФ, **90** (12), 2054 (2020). DOI: 10.21883/JTF.2020.12.50121.46-20 [Т.К. Nurubeyli. Tech. Phys., **65** (12), 1963 (2020). DOI: 10.1134/S1063784220120166]
- [9] Т.К. Нурубейли, Kh.N. Ahmadova. Intern. J. Modern Phys. B, **35** (05), 2150094 (2021). DOI: 10.1142/S0217984921500949
- [10] Т.К. Нурубейли, З.К. Нурубейли, К.З. Нуриев, К.Б. Гурбанов. ЖТФ, **87** (2), 277 (2017). DOI: 10.21883/JTF.2017.02.44138.1624 [Т.К. Nurubeyli, Z.K. Nurubeyli, K.Z. Nuriyev. Tech. Phys., **62** (2), 305 (2017). DOI: 10.1134/S1063784217020220]
- [11] I. G.Venkatesh, K.S. Subramanian, J.R. Woittiez. *Element Analysis of Biological Samples* (CRC Press, USA, 1997), DOI: 10.1201/9781003068358
- [12] C.S. Kira, A.M. Sakuma, N. Cruz Gouveia. J. Appl. Pharm. Sci., **4** (5) 39 (2014). DOI: 10.7324/JAPS.2014.40507
- [13] K.L. Pei, D.W. Kinniburgh, L. Butlin, P. Faris, D. Lee, D.A. Marshall, M.C. Oliver, R. Parker, J.N. Powell, P. Railton, J. Smith. Clin. Biochem., **45** (10–11), 806 (2012). DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.03.025
- [14] I. Blas Bravo, R.S. Castro, N.L. Riquelme, C.T. Díaz, D.A. Goyenaga. J. Clinic. Biochem., **21** (1), 14 (2007). DOI: 10.1016/j.jtemb.2007.09.017
- [15] J. Rambousková, A. Krsková, M. Slavíková, M. Čejchanová, K. Wranová, B. Procházka, M. Černá. Arch. Gerontol. Geriat., **56** (2), 389 (2013). DOI: 10.1016/j.archger.2012.11.002

- [16] S. D'Ilio, F. Forastiere, A. Draicchio, C. Majorani, F. Petrucci, N. Violante, O. Senofonte, *Ann. Ist. Super Sanità*, **49** (1), 24 (2013).
- [17] N.B. Ivanenko, A.A. Ivanenko, N.D. Solovyev, A.E. Zeimal, D.V. Navolotskii, E.J. Drobyshev. *Talanta*, **116**, 764 (2013). DOI: 10.1016/j.talanta.2013.07.079
- [18] G. Li, J.D. Brockman, Sh.-W. Lin, C.C. Abnet, L.A. Schell, J.D. Robertson. *Am. J. Anal. Chem.*, **3** (9), 646 (2012). DOI: 10.4236/ajac.2012.39084
- [19] B. Bocca, R. Madeddu, Y. Asara, P. Tolu, J.A. Marchal, G. Forte. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **25** (1), 19 (2011). DOI: 10.1016/j.jtemb.2010.12.004
- [20] M. Krachler, K.J. Irgolic. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **13** (3), 157 (1999). DOI: 10.1016/S0946-672X(99)80006-6
- [21] E.H. Evans, J.J. Giglio. *J. Anal. At. Spectrom.*, **8** (2), 1 (1993).
- [22] T.W. May, R.H. Wiedmeyer. *Atom. Spectrosc.*, **19** (5), 150 (1998).
- [23] D.C. Gregoire, R.E. Sturgeon. *Spectrochim. Acta. Part B*, **48** (11), 1347 (1993).
- [24] I.F. Seregina, S.Yu. Lanskaya, O.I. Okina, M.A. Bol'shov, S.M. Lyapunov, O.L. Chugunova, A.S. Foktova. *J. Analyt. Chem.*, **65**, 964 (2010). DOI: 10.1134/S1061934810090133
- [25] W.J. McShane, R.S. Pappas, V. Wilson-McElprang, D. Paschal. *Spectrochim. Acta Part B*, **63** (6), 638 (2008). DOI: 10.1016/j.sab.2008.03.016
- [26] D. Pröfrock. *Appl. Spectr.*, **66** (8), 843 (2012). DOI: 10.1366/12-06681
- [27] Ch. Agatemor, D. Beauchemin. *Anal. Chim. Acta.*, **706** (1), 66 (2011). DOI: 10.1016/j.aca.2011.08.027
- [28] B. Gulson, K. Mizon, A. Taylor, M. Korsch, J. Stauber, J.M. Davis, H. Louie, M. Wu, L. Antin. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **22** (3), 206 (2008). DOI: 10.1016/j.jtemb.2008.04.001
- [29] H.-Ch W. Stavros, R.K. Bonde, P.A. Fair. *Mar. Pollut. Bull.*, **56** (6), 1215 (2008). DOI: 10.1016/j.marpolbul.2008.03.035