

УДК 543.423.1

DOI 10.17223/24135542/11/2

**В.И. Отмахов, Е.С. Рабцевич, Д.А. Горст, Е.В Петрова, Д.Е. Бабенков**

*Национальный исследовательский Томский государственный университет  
(г. Томск, Россия)*

## **Создание методики определения элементного состава клещей для оценки их восприимчивости к возбудителям клещевых инфекций**

*Создана методика атомно-эмиссионного спектрального анализа клещей, позволяющая по содержанию в них эссенциальных, условно эссенциальных, токсичных и потенциально токсичных химических элементов оценивать уровень природно-очаговых инфекций. На основании результатов анализа установлено, что повышенное содержание ряда металлов в клещах влияет на их биологию и морфологию, приводя к снижению их иммунитета и повышению восприимчивости к возбудителям природно-очаговых инфекций.*

**Ключевые слова:** *тяжелые металлы; клещи; спектральный анализ; методика выполнения измерений; малый скрининг.*

### **Введение**

В последние годы возросло внимание экологов и эпидемиологов к новому направлению исследований природно-очаговых инфекций – прогнозированию их распространения в условиях глобального потепления климата, ведущего к расширению ареала иксодовых клещей, и техногенного загрязнения окружающей среды [1]. К настоящему времени получено достаточно данных, свидетельствующих о том, что выбросы от автотранспорта, содержащие ионы токсичных металлов (ТМ) – Cd, Zn, Cu, Pb, Ni, Mn Fe, Co и др., – приводят к деградации экосистем в результате загрязнения атмосферного воздуха, воды и почвы, особенно вдоль автотрасс. Выбросы автотранспорта составляют до 79% от общего количества выбросов в окружающую среду. Установлено, что загрязнение почв токсичными металлами влияет на биологию и морфологию клещей (рис. 1), приводя к снижению иммунитета кровососущих и, как следствие, повышению восприимчивости клещей к патогенным агентам [2]. Наиболее пагубное влияние на флору и фауну оказывают ТМ. Согласно литературным данным [3], в организме самок иксодовых клещей, собранных вдоль автострад, обнаружено аномальное содержание ТМ, в 1,5–2 раза превышающее содержание ТМ в клещах, обитающих вдали от дорог. Высказывается предположение, что существует причинно-следственная связь между силой давления антропогенного прессы и ростом опасности активизации природных очагов клещевых инфек-

ций. Ранее для оценки зараженности клещей определяли содержание токсичных металлов в образцах почв, взятых в местах их обитания [4].



Рис. 1. Внешний вид иксодовых клещей с разными формами патологии экзоскелета за счет повышенного содержания ТМ [4]

Актуальность работы заключается в том, что впервые создана методика спектрального анализа индивидуальных особей клещей для установления их элементного статуса, позволяющая оценить возможность снижения иммунитета кровососов к патогенным агентам.

Цель исследования – создание методики спектрального анализа для установления элементного статуса индивидуальных особей клещей с последующей оценкой влияния ТМ на экзоскелет и зараженность иксодовых клещей, собранных на загрязненных территориях.

### **Экспериментальная часть**

Для изучения влияния ТМ на зараженность и состояние экзоскелета были собраны образцы клещей в разных районах г. Томска. Их элементный состав исследовали методом дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии с многоканальным анализатором эмиссионных спектров (ДАЭС с МАЭС) с использованием спектроаналитического комплекса «Гранд» [5, 6]. Для оценки возможности метода ДАЭС в части чувствительности при анализе одной особи клеща был поставлен 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°C в течение одного часа. Суммарная масса угольного порошка в электроде (коллектор контролируемых элементов) соответствовала массе каждого из стандартных образцов (СОГ-37) [7], используемых для построения градуировочных графиков. Приготовленную таким образом пробу испаряли из канала (анод) электрода (глубина, диаметр кратера – 0,004, 0,0045 м). Катодом служил электрод, заточенный в форме конуса (в работе использовали

графитовые электроды для спектрального анализа ОСЧ-7-4). Условия регистрации спектров: постоянный ток 13 А; расстояние между электродами – 0,003 м; ширина щели –  $3,0 \cdot 10^{-5}$  м; диафрагма – 0,005 м; накоплений – 160; длительность накоплений – 125 мс; полная экспозиция – 20 с. В табл. 1 приведены результаты определения элементов в одной особи клеща и в двух клещевых особях с учетом поправки контрольного опыта.

Для максимально полного соответствия анализируемых проб стандартным образцам на основе угольного порошка СОГ-37 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).

Метрологическую аттестацию предлагаемой методики анализа клещей на содержание макро- и микроэлементов проводили по алгоритму «метод оценки показателей качества методики анализа с применением метода варьирования навески» РМГ 61–2010 [8].

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

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

$$t = \frac{|\Theta|}{\sqrt{\frac{S_1^2}{L} + \frac{S_2^2}{L}}}, \quad (3)$$

$$\Theta = \bar{x} - \bar{x}', \quad (4)$$

$$\Delta_C = 1,96 \sqrt{\frac{S_1^2}{L} + \frac{S_2^2}{L}} = 1,96 \sigma(\Delta_C) = 1,96 \sigma_C, \quad (5)$$

$$\Delta_B = |\Delta_H| = \Delta = 1,96 \sqrt{\sigma_R^2 + \sigma_R'^2} = 1,96 \sigma(\Delta). \quad (6)$$

С целью оценки показателей качества измерений количество одновременно анализируемых особей клещей было увеличено до 10 штук. В соответствие с этим масса угольного порошка, являющегося коллектором их зольного остатка, была также увеличена в 10 раз (0,1500 г). Для набора статистических данных в чистую 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. После их предварительного обугливания несколькими каплями концентрированной серной кислоты (ОСЧ) и высушивания под ИК-лампой при температуре  $(100 \pm 5)^\circ\text{C}$  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  $(145 \pm 5)$  мг. Это указывало на то, что органическая составляю-

щая клещей полностью минерализована, а неорганическая распределилась в графитовой матрице. Некоторое уменьшение массы минерализата обусловлено потерями, которые полностью устранить при осуществлении процедуры пробоподготовки невозможно, но они учтены при расчетах показателей качества измерений.

После тщательной гомогенизации полученной пробы 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 табл. 2. 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 табл. 3. Параллельно по всей процедуре пробоподготовки проводили контрольный опыт.

### Результаты и их обсуждение

Из табл. 1 видно, что методом ДАЭС с МАЭС можно определять элементный состав отдельных особей клещей при их индивидуальном рассмотрении; чувствительность метода позволяет проводить аналитический контроль 17 элементов, 4 из которых являются макрокомпонентами (P, Na, Ca, K).

Т а б л и ц а 1

**Элементный состав отдельных особей клещей, установленный методом ДАЭС с МАЭС (малый скрининг)**

№ п/п	Элемент	Содержание в клеще, мкг/г	
		1 клещевая особь	2 клещевые особи
1	Фосфор (P)	9 260	13 300
2	Натрий (Na)	4 210	6 350
3	Кальций (Ca)	3 160	5 110
4	Калий (K)	2 490	4 450
5	Магний (Mg)	730	810
6	Железо (Fe)	560	1 730
7	Кремний (Si)	340	1 180
8	Алюминий (Al)	150	680
9	Цинк (Zn)	105	435
10	Никель (Ni)	27	33
11	Медь (Cu)	16	26
12	Марганец (Mn)	6,4	27
13	Титан (Ti)	49	90
14	Барий (Ba)	2,0	6,3
15	Олово (Sn)	1,6	4,7
16	Кадмий (Cd)	1,1	2,6
17	Кобальт (Co)	0,9	1,2

На ИК-спектре поглощения зольного остатка клещей (рис. 2) видно, что основная полоса поглощения, лежащая в области  $1\ 100\text{--}1\ 000\ \text{см}^{-1}$ , принадлежит фосфат ионам –  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $\nu_1$  – деформационные колебания). Полосы поглощения  $1\ 500\text{--}1\ 400\ \text{см}^{-1}$  ( $\nu_1$  – валентные колебания) и  $873\ \text{см}^{-1}$  принадлежат карбонат ионам –  $\text{CO}_3^{2-}$  [9]. На основании исследования катионного и анионного состава зольного остатка клещей следует предположить, что он представлен главным образом фосфатами и карбонатами калия, кальция и натрия, что необходимо учитывать при определении микропримесей на стадии пробоподготовки и аттестации методики.

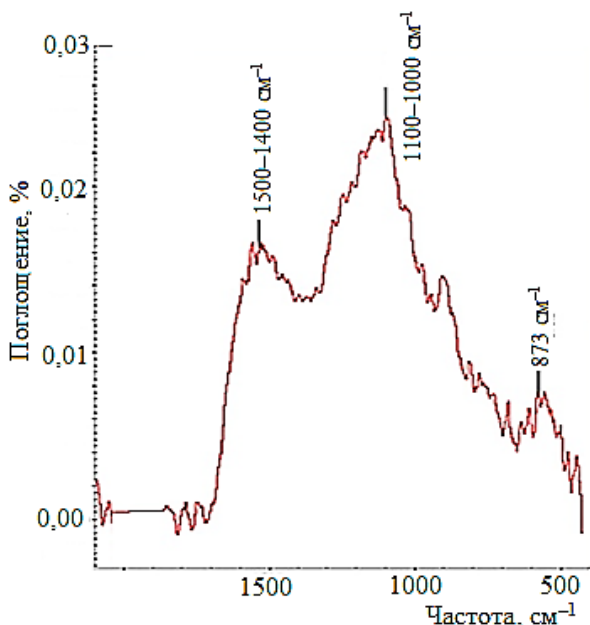


Рис.2. ИК-спектр поглощения зольного остатка клещей в области  $2000\text{--}500\ \text{см}^{-1}$ . По оси абсцисс – частота,  $\text{см}^{-1}$ , по оси ординат – поглощение, %

В табл. 2, 3 представлены данные для расчета внутрилабораторной прецизионности.

Таблица 2

**Концентрации элементов в клещах, установленные методом ДАЭС с МАЭС неразбавленного минерального остатка в условиях внутрилабораторной прецизионности**

Элемент	Концентрация в клещах, мкг/г					
	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$	$x_5$	$\bar{x}$
P	2 632	2 955	2 950	2 978	3 138	2 932
Ca	1 732	1 735	1 878	1 730	2 024	1 820
Mg	282	318	359	399	422	356
Fe	412	465	486	542	559	492
Si	278	314	318	338	387	321
Al	286	304	319	333	388	326

Окончание табл. 2

Элемент	Концентрация в клещах, мкг/г					
	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$	$x_5$	$\bar{x}$
Zn	246	269	287	313	347	292
Ni	19,7	20,1	20,7	21,2	22,7	20,9
Cu	16,4	14,6	16,5	15,5	16,4	15,9
Mn	9,8	10,9	11,4	12,8	13,2	11,6
Ti	156	163	184	207	225	187
Ba	4,4	4,7	4,7	5,1	6,6	5,1
Sn	0,77	0,78	0,82	0,85	0,86	0,80
Cd	0,93	0,98	1,02	1,17	1,30	1,10
Co	0,95	0,95	1,15	1,21	1,35	1,10

Таблица 3

**Концентрации элементов в клещах, установленные методом  
ДАЭС с МАЭС разбавленного в 1,5 раза минерального  
остатка в условиях внутрилабораторной прецизионности**

Элемент	Концентрация в клещах, мкг/г					
	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$	$x_5$	$\bar{x}$
P	2 449	2 624	2 917	3 092	3 326	2 882
Ca	1 831	1 941	2 379	1 557	1 776	1 897
Mg	322	339	375	380	417	367
Fe	434	445	527	529	578	503
Si	273	280	327	355	375	322
Al	291	302	311	321	341	313
Zn	255	286	309	312	331	298
Ni	16,7	19,5	21,2	23,3	24,3	21,0
Cu	14,9	15,8	15,8	15,3	15,8	15,5
Mn	10,2	11,2	12,6	13,3	13,8	12,2
Ti	154	169	179	188	216	181
Ba	5,05	5,54	5,91	6,72	7,12	6,10
Sn	0,71	0,73	0,79	0,81	0,83	0,80
Cd	0,95	1,18	1,38	1,40	1,51	1,30
Co	0,99	1,09	1,28	1,35	1,48	1,20

Таблица 4

**Диапазоны измерений, относительные значения показателей точности,  
правильности и внутрилабораторной прецизионности методики  
спектрального анализа клещей при доверительной вероятности  $P = 0,95$**

Элемент	Диапазон измерений, мкг/г	$\Delta$ , %	$\sigma_R$ , %	$\sigma_c$ , %	R, %
<b>Эссенциальные жизненно важные химические элементы</b>					
P	2 500–3 500	22	10	6	25
Ca	1 500–2 500	29	12	8	33
Al	300–400	22	9	6	26
Mg	300–500	31	13	8	35
Fe	400–600	28	11	8	32

Окончание табл. 4

Элемент	Диапазон измерений, мкг/г	$\Delta$ , %	$\sigma_R$ , %	$\sigma_c$ , %	R, %
Si	270–400	30	12	8	34
Zn	200–400	27	11	7	30
Ti	100–200	33	14	9	37
Токсичные, потенциально токсичные и условно эссенциальные химические элементы					
Ni	10–20	25	10	7	29
Cu	10–20	10	4	3	11
Ba	1–10	39	17	1	47
Mn	10–20	28	12	8	32
Cd	1–5	40	18	10	49
Co	0,5–2,0	37	16	10	43
Sn	0, 5–2,0	38	6	18	14

Расчет показателей качества измерений проводили по формулам (1–6) в соответствии с требованиями РМГ 61–2010 с применением программы MS Excel. Результаты представлены в табл. 4. На основании проведенных расчетов составлена объединенная таблица показателей качества измерений и установлены соответствующие диапазоны для проведения спектрального анализа.

### Заключение

На основании проведенных исследований доказана чувствительность дугового атомно-эмиссионного спектрального анализа при определении элементного состава индивидуальных особей клещей на основные эссенциальные элементы и тяжелые металлы. Создана методика, позволяющая получать дополнительную информацию для оценки снижения иммунитета кровососов к патогенным агентам.

### Литература

1. Малеев В.В. Обзор Европейских рекомендаций по диагностике клещевых бактериальных инфекций в Европе // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2005. Т. 7, № 2. С. 130–143.
2. Мишаева Н.П. Зараженность иксодовых клещей белорусской популяции патогенными для человека микроорганизмами // Достижения медицины Беларуси. 2010. Вып. 15. С. 23.
3. Алексеев А.Н., Дубина Е.В., Юшкова О.В. Функционирование паразитарной системы «клещ–взбудители» в условиях усиливающегося антропогенного пресса. СПб. : Сев.-Зап. гос. заоч. техн. ун-т, 2008. 146 с.
4. Мишаева Н.П. Влияние тяжелых металлов на биологию иксодовых клещей и их зараженность возбудителями природно-очаговых инфекций // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. 2013. № 1 (9). С. 83–87.
5. Отмахов В.И. Структурно-методическая схема создания методик анализа оксидных материалов с применением метода атомно-эмиссионной спектроскопии // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2008. Т. 74, № 8. С. 15–17.
6. Отмахов В.И. Методологические особенности создания методик атомно-эмиссионного анализа различных объектов // Аналитика и контроль. 2005. Т. 9, № 3. С. 245–249.

7. ГСО 8487–2003. Стандартные образцы состава графитового коллектора микропри-  
месей (комплект СОГ-37). Екатеринбург : УГТУ-УПИ, 2003.
8. РМГ 61–2010. Государственная система обеспечения единства измерений. Показате-  
ли точности, правильности, прецизионности методик количественного химического  
анализа. Методы оценки. Взамен РМГ 61–2003; введ. 01.09.2012. М. : Стандартин-  
форм, 2012. 62 с.
9. Накамото К. ИК спектры и спектры КР неорганических и координационных соеди-  
нений. М. : Мир, 1991. 536 с.

**Информация об авторах:**

**Отмахов Владимир Ильич**, д-р техн. наук, профессор кафедры аналитической химии химическо-  
го факультета Национального исследовательского Томского государственного университета  
(г. Томск, Россия). E-mail: otmakhov2004@mail.ru

**Рабцевич Евгения Сергеевна**, аспирант кафедры аналитической химии химического факультета  
Национального исследовательского Томского государственного университета (г. Томск, Россия).  
E-mail: evgenia882-a@mail.ru

**Горст Дарья Андреевна**, студент кафедры аналитической химии химического факультета Нацио-  
нального исследовательского Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail:  
darya.gorst.95@mail.ru

**Петрова Елена Васильевна**, канд. хим. наук, доцент кафедры аналитической химии химического  
факультета Национального исследовательского Томского государственного университета (г. Томск,  
Россия). E-mail: elena1207@sibmail.com

**Бабенков Денис Евгеньевич**, ассистент, аспирант кафедры аналитической химии химического  
факультета Национального исследовательского Томского государственного университета (г. Томск,  
Россия). E-mail: denis\_babenkov@list.ru

*Tomsk State University Journal of Chemistry*, 2018, 11, 23-31. DOI: 10.17223/24135542/11/2

---

**V.I. Otmakhov, E.S. Rabtsevich, D.A. Gorst, E.V Petrova, D.E. Babenkov**

*National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia)*

**A technique for determining the elemental composition of ticks  
to assess their susceptibility to pathogens of tick infections**

*Soil pollution has been found to affect the biology and morphology of ticks and to lead to a decrease in the immunity of these bloodsuckers, which leads to an increase in the susceptibility of ticks to pathogenic agents. Heavy metals (HM) specifically affect ticks. Scientists have noted that increased content of HM and a number of other metals in the body of ticks leads to changes in the exoskeleton. A technique created for atomic emission spectroscopic analysis of ticks that determines the content of essential, conditionally essential, toxic, and potentially toxic chemical elements to estimate the level of tick infections is the topic of this work, which used tick individuals collected in different regions of the city of Tomsk (Russian Federation). The technique was developed using a Grand spectrometer with a multichannel emission spectrum analyzer. Quantitative analysis by arc atomic emission spectroscopy was conducted using the state standard samples (SOG-37). A unique method of sample preparation of an individual tick for spectral analysis was developed and carried out. The analysis modes for atomic-emission spectral analysis with a multichannel emission spectrum analyzer were optimized. To estimate the anionic composition of the sample, an IR spectroscopy analysis was performed using a Fourier spectrometer Nicolet 6700 (Thermo Scientific, USA). The technique was based on the possibility of determining more than 20 elements in one tick*



*individual. The sensitivity of the method was evaluated. The indicators of the quality of measurements were calculated, and the corresponding ranges for spectral analysis were determined. The technique passed preliminary metrological certification according to the algorithm «method of estimating the quality indicators of the analysis technique using the method of variation of the sample mass» in accordance with the requirement of the state standard RMG 61–2010. After an appropriate metrological examination and its introduction into the federal register, the technique can be recommended for use in accredited analytical laboratories for small screening. The analysis obtained by this method established that an increased content of a number of metals in the tick organism led to changes in the exoskeleton that affected the biology and morphology of the ticks, leading to a decrease in immunity and increasing their susceptibility to pathogens of tick infections.*

**Keywords:** heavy metals; ticks; spectral analysis; measurement techniques; small screening.

### References

1. Maleev V.V. Obzor Evropeyskikh rekomendatsiy po diagnostike kleshchevikh bakterialnykh infektsiy v Evrope. *Klin. Microbial. i antimicrob. Khimioterapiya*. 2005;7(2):130–143. (In Russian)
2. Mishaeva N.P. Zarazhennost iksoodovikh kleshchey belorusskoy populyatsii patogennymi dlya cheloveka mikroorganizmami. *Dostizheniya mediciny Belarusi*. 2010;15:23. (In Russian)
3. Alekseyev A.N., Dubinina E.V., Yushkova O.V. Funktsionirovaniye parazitarnoy sistemy «kleshch – vzubditeli» v usloviyakh usilivayushchegosya antropogennogo pressa. Saint-Petersburg : Severo-Zapadnyy gos. zaoch. tekhn. un-t. 2008. 146 p. (In Russian)
4. Mishaeva N.P. Vliyaniye tyazhelykh metallov na biologiyu iksoodovikh kleshchey i ikh zarazhennost vobzuditelyami prirodno-ochagovykh infektsiy. *Med.-biol. problemy zhiznedeyatelnosti*. 2013;1:83–87. (In Russian)
5. Otmakhov V.I. Strukturno-metodicheskaya skhema sozdaniya metodik analiza oksidnykh materialov s primeneniyyem metoda atomno-emissionnoy spektroskopii. *Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov*. 2008;74(8):15–17. (In Russian)
6. Otmakhov V.I. Metodologicheskie osobennosti sozdaniya metodik atomno-emissionnogo analiza razlichnykh obektov. *Analitika i control*. 2005;9(3):245–249. (In Russian)
7. GSO 8487-2003. Standartnye obraztsy grafitovogo kollektora mikroprimesey. Komplekt SOG-37. Ekaterinburg: UGTU-UPI, 2003. (In Russian)
8. RMG 61–2010. Gosudarstvennaya Sistema obespecheniya edinstva izmereniy. Pokazateli tochnosti, pravilnosti, pretsisionnosti metodik kolichestvennogo khimicheskogo analiza. *Metody otsenki. – Vzamen RMG 61–2003; vved. 2012–09–01*. Moscow : Standartinform, 2012. 62 p. (In Russian)
9. Nakamoto K. IK spektry i spektry KR neorganicheskikh i koordinatsionnykh soedineniy. Moscow : Mir, 1991. 536 p. (In Russian)

#### Information about the authors:

**Otmakhov Vladimir I.**, PhD, Professor, Analytical Chemistry Department, Chemistry Faculty, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). E-mail: otmahov2004@mail.ru

**Rabtsevich Evgeniya S.**, postgraduate student, Analytical Chemistry Department, Chemistry Faculty, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). E-mail: evgenia882-a@mail.ru

**Gorst Darya A.**, student, Analytical Chemistry Department, Chemistry Faculty, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). E-mail: darya.gorst.95@mail.ru

**Babenkov Denis E.**, assistant, postgraduate student, Analytical Chemistry Department, Chemistry Faculty, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). E-mail: denis\_babenkov@list.ru

**Petrova Elena V.**, PhD, assistant professor, Analytical Chemistry Department, Chemistry Faculty, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). E-mail: elena1207@sibmail.com