

УДК 543.423:595.42-026.86  
DOI: 10.17223/24135542/18/5

**В.И. Отмахов, Е.В. Петрова, И.С. Кускова, И.С. Черепанова**

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

## **Исследование содержания токсичных элементов в составе клещей методом дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии с целью оценки их влияния на зараженность возбудителями природно-очаговых инфекций**

*В последние годы внимание экологов и эпидемиологов привлечено к новому направлению исследований природноочаговых инфекций – прогнозированию их распространения в условиях глобального потепления климата, ведущего к расширению ареала иксодовых клещей, и техногенного загрязнения окружающей среды. К настоящему времени получено достаточно данных, показавших, что выбросы от автотранспорта, содержащие ионы тяжелых металлов – Cd, Zn, Cu, Pb, Ni, Mn, Fe, Co – приводят к деградации экосистем в результате загрязнения атмосферного воздуха, воды и почвы, особенно вдоль автотрасс. Выбросы от автотранспорта составляют до 79% общего количества выбросов в окружающую среду. Установлено, что загрязнение почв тяжелыми металлами влияет на биологию и морфологию клещей, приводит к снижению иммунитета кровососов, что ведет к повышению восприимчивости клещей к патогенным агентам. Наиболее пагубное влияние на флору и фауну оказывают тяжелые металлы. В настоящей работе проведены исследования по возможности использования метода дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии путем испарения сухого остатка пробы с торца графитового электрода для количественного определения микроэлементов в таких биологических объектах, как клещи. Исследования проводили в аккредитованной лаборатории мониторинга окружающей среды, входящей в состав Томского регионального центра коллективного пользования НИИ ТГУ. Цифровой спектрографический анализ осуществляли на спектрометре «Гранд» с многоканальным анализатором эмиссионных спектров. На основании проведенных исследований предложена методика анализа индивидуальной особи клеща на содержание токсичных и потенциально токсичных элементов с использованием для градуировки государственных стандартных образцов водных растворов их солей. Отсутствие систематической погрешности доказано на модельных образцах методом удвоения пробы. По предложенной методике можно количественно определять до 18 микроэлементов, содержание которых в клеще составляет  $n \cdot 10^{-6}$  мкг и выше, с относительным стандартным отклонением результатов 20–25% отн.*

**Ключевые слова:** *тяжелые металлы, биологические объекты, клещи, атомно-эмиссионный анализ, сухой остаток пробы, методика выполнения измерений.*

### **Введение**

В последние годы на территории Российской Федерации отмечается значительный рост количества клещей. В Томской области из всех клещей рода *Ixodes* особенно распространены таежный клещ (*Ixodes persulcatus*

Sch.) [1], Павловского (*Ix. pavlovskiy* Rom.), реже – луговой клещ (*Dermacentor reticulatus* Fabr. и *Haemaphysalis concinna* Koch.) [2]. Иксодовые клещи (иксодиды) – специфические переносчики возбудителей таких болезней, как клещевой энцефалит, сыпной клещевой тиф, возвратный клещевой тиф, туляремия, эрлихиоз, бабезиоз, клещевой боррелиоз (болезнь Лайма), геморрагическая лихорадка, риккетсиоз, лихорадка [3]. Сегодня отмечается тенденция к формированию стойких очагов клещевых инфекций на городских и пригородных территориях. Поэтому основное внимание экологов и эпидемиологов привлечено к поиску причин возникновения природноочаговых инфекций, одной из которых является техногенное загрязнение окружающей среды. В результате техногенной деятельности человека в природную среду попадает большое количество ионов тяжелых и токсичных металлов, которые оседают в почве, попадают в поверхностные и грунтовые воды. Далее происходит их продвижение от растений к животным и птицам, а затем – к клещам, питающимся кровью последних. Накопление в клещах токсичных и условно токсичных элементов, особенно таких, которые участвуют в процессах метаболизма в живых организмах (Cd, Pb и др.), влияет на биологию и морфологию клещей, приводя к снижению иммунитета кровососов, что способствует повышению восприимчивости клещей к патогенным агентам. В результате появляется и быстро увеличивается популяция клещей-мутантов рода *Ixodes* [4–6]. В них чаще встречаются вирусы и бактерии, причем возбудителей опасных для человека заболеваний в несколько раз больше, чем в обычных клещах. Кроме того, такие клещи становятся более агрессивными и могут одновременно переносить сразу несколько опасных для человека инфекций [6].

Таким образом, актуальность исследования элементного состава клещей несомненна, поскольку позволяет оценить не только эпидемиологическую обстановку в регионе, но и техногенное загрязнение окружающей среды. Ранее на кафедре аналитической химии НИ ТГУ была разработана классическая унифицированная методика анализа одной клещевой особи с применением метода дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии (ДАЭС–МАЭС), заключающаяся в переводе элементов пробы на графитовый коллектор в процессе термической минерализации клеща в кратере графитового электрода (анод) с последующим испарением из него полученного концентрата (глубина, диаметр кратера – 0,004, 0,0045 м). Катодом служил электрод, заточенный в форме конуса. 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 [7]. Количественное определение 13 микроэлементов проводили с использованием спектроаналитического комплекса «Гранд» [8–10] относительно государственных стандартных образцов на основе графитового порошка СОГ-37 [11] с чувствительностью  $n \cdot 10^{-4}$  мкг и выше и относительным стандартным отклонением результатов 25–30% отн.

Для расширения круга контролируемых элементов, снижения пределов их обнаружения может быть использован другой аналитический метод –

масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) [12], но для этого необходимо полное переведение пробы в раствор. Процедура эта длительная и трудоемкая. Она включает обработку клеща концентрированными  $\text{HNO}_3$  и  $\text{H}_2\text{O}_2$  (7 и 2 мл соответственно) в системе микроволнового разложения Milestone Start D (200°C, 700 Вт), высушивание растворов до состояния влажных солей на электрической плите при температуре  $(110 \pm 10)^\circ\text{C}$ , последующее их растворение в 10 мл 15%-ной  $\text{HNO}_3$  со следами HF (на 1 л 15%-ной  $\text{HNO}_3$  – 2 мл HF) и с введением 0,1 мл раствора In в качестве внутреннего стандарта. Полученные таким образом растворы анализируют методом ИСП-МС на приборе Agilent 7500сх (выходная мощность генератора – 1 500 Вт, тип распылителя – MicroMist (микроаэрозольный), распылительная камера – охлаждаемая, расход вспомогательного потока Ar – 0,2 л/мин, скорость подачи пробы – 0,1 об/мин), что позволяет количественно определить до 40 микроэлементов с содержанием в клеще  $n \cdot 10^{-6}$  мкг и выше. Относительное стандартное отклонение результатов определения ряда микроэлементов, содержание которых в клещах находится на пределе чувствительности, может превышать 30% отн.

Несмотря на явные преимущества индуктивно связанной плазмы, метод ИСП-МС является дорогостоящим, к тому же он требует довольно длительного и трудоемкого процесса переведения пробы в раствор. На сегодняшний день самым доступным по стоимости проводимых анализов и простым в обращении источником возбуждения спектров является дуга постоянного тока. Поэтому в данной работе было решено использовать метод дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии с цифровой регистрацией спектров (МАЭС). Анализ клещей парами и даже колониями, состоящими из 4–6 особей, объединенных по ареалам их обитания, не дал существенного снижения пределов обнаружения микроэлементов. Однако внимания заслуживает давно известный способ анализа сухих остатков проб с торцов графитовых электродов, который был использован Н.С. Соломенцевой и О.В. Шуваевой для определения микроэлементов (Cu, Mn, Pb, Zn, Cd, Fe, Al, Mg, Ca) в природных водах [13]. Метод заключается в том, что жидкую неорганическую пробу малого объема (начиная с 10 мкл) помещают на торец графитового электрода, высушивают, а затем регистрируют спектр полученного сухого остатка. Преимущества метода очевидны: простота пробоподготовки, снижение величины холостого опыта и пределов обнаружения микроэлементов, возможность градуировки с использованием ГСО водных растворов солей определяемых элементов. Поэтому целью данной работы явилась разработка более чувствительной методики количественного определения микроэлементов в индивидуальных особях клещей методом ДАЭС–МАЭС путем испарения сухого остатка пробы с торца электрода.

### **Материалы и методы исследования**

Все применяемые в работе реактивы имели квалификацию не ниже ос.ч., графитовые электроды использовали марки ос.ч.–7–4.

Анализ проводили методом ДАЭС с использованием спектроаналитического комплекса «Гранд», включающего многоканальный анализатор эмиссионных спектров, полихроматор «Роуланд» и генератор «Везувий-3» [14, 15]. Комплекс зарегистрирован в Государственном реестре средств измерений под № 33011-06 и проходит ежегодную поверку (свидетельство о поверке № 55586/203 от 07.11.2018 г, действительно до 07.11.2019 г.). Рабочий спектральный диапазон 160–1 100 нм, пределы спектрального разрешения 0,005–0,3 нм, диапазон определения массовой концентрации элементов состава веществ и материалов  $10^{-7}$ –100%, предел допустимого значения среднеквадратического отклонения результатов определения массовой концентрации элементов состава веществ и материалов не более 10 мас. %

*Подготовка электродов к анализу.* Электроды изготавливали из графитовых стержней: один электрод затачивали на конус, другой – на плоский торец. Для удобства нанесения растворов торец изготавливали слегка вогнутым, в виде лунки. Для снижения величины холостого опыта заточенную поверхность электродов очищали от поверхностных загрязнений и содержащихся в них примесей путем обжига в дуговом разряде в течение 8 с. Время обжига было выбрано экспериментально после изучения зависимости интенсивности ( $I$ ) спектральных линий ряда элементов в чистом электроде от времени его предварительного обжига ( $\tau_{\text{обж}}$ ) (рис. 1). Из рис. 1 видно, что при силе тока 13 А достаточным временем обжига является 8 с. Более длительное воздействие дугового разряда на электрод ухудшает структуру его поверхностного слоя, который становится более рыхлым и пористым.

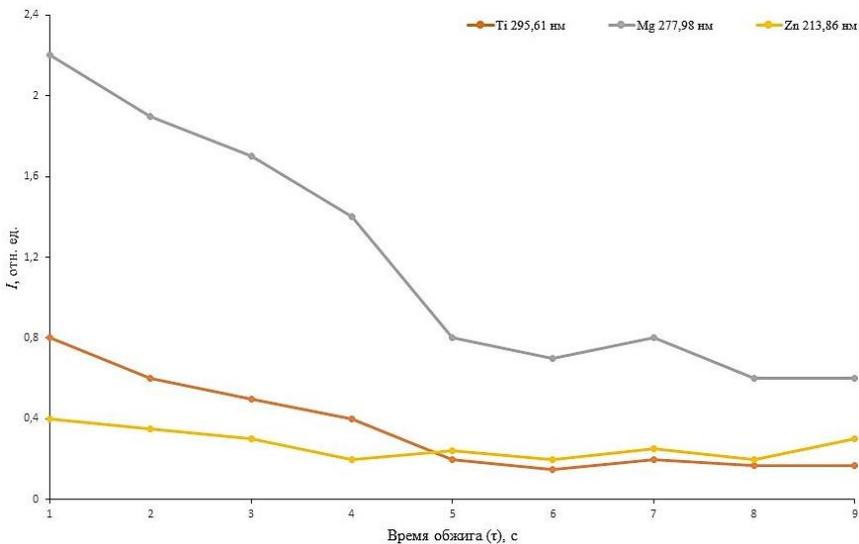


Рис. 1. Зависимость интенсивностей спектральных линий ряда элементов (Ti, Zn, Mg) в чистом электроде от времени его предварительного обжига (от 0 до 16 с)

При нанесении стандартного раствора или раствора пробы на электрод может произойти диффузия элементов в объем электрода. Уменьшить диффузию удастся полированием электрода, но, чтобы исключить ее полностью, необходимо создать на поверхности электрода сплошную непроницаемую защитную пленку. С этой целью электроды пропитывают (импрегнируют) растворами полимерных органических веществ в летучих органических растворителях с последующим их высушиванием. Наиболее универсальной считается полистирольная защита, так как полистирол обладает высокой кислото- и щелочестойкостью [16]. В данной работе для обеспечения защитного слоя, предотвращающего диффузию раствора в объем электрода, на поверхность каждого из электродов, заточенных на плоскость и подвергшихся обжигу, наносили по 20 мкл 1%-ного раствора полистирола в толуоле и высушивали под ИК-лампой при температуре не выше 60°C. Образующая защитная пленка не только предотвращает диффузию, но и удерживает каплю на торце электрода.

*Выбор времени регистрации спектра (экспозиции).* Время экспозиции выбирали на основании изучения кривых «испарения–возбуждения», отражающих временную динамику формирования аналитического сигнала. Исследование проводили на модельных образцах. Для этого 10 мкл стандартного раствора, содержащего 0,0001 г/л определяемых элементов, в первом случае наносили на торец предварительно обожженного и импрегнированного полистиролом электрода, а в другом – на навеску графитового порошка массой 0,0150 г, помещенную в кратер графитового электрода (глубина, диаметр кратера – 0,004, 0,0045 м).

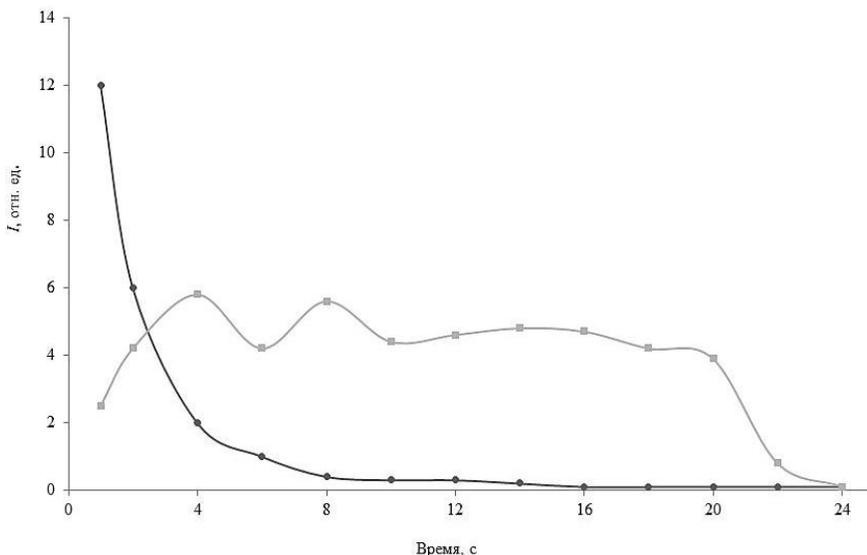


Рис. 2. Зависимости интенсивности аналитической линии Cu (327,39 нм) от времени регистрации спектра: ● – испарение сухого остатка с торца электрода; ■ – классический способ испарения графитового концентрата из канала электрода

Противоэлектродом служил электрод, заточенный в форме конуса. При этом содержание элементов в исследуемых образцах составляло 0,001 мкг. Изучение процессов поступления атомов из канала электрода в зону разряда и с торца электрода осуществляли с помощью построения кривых «испарения–возбуждения», полученных путем регистрации спектра каждые 2 с до полного выгорания пробы. На рис. 2, 3 приведены зависимости интенсивности аналитической линии Cu (327,39 нм) и Zn (213,86 нм) от времени регистрации спектра при различных способах испарения.

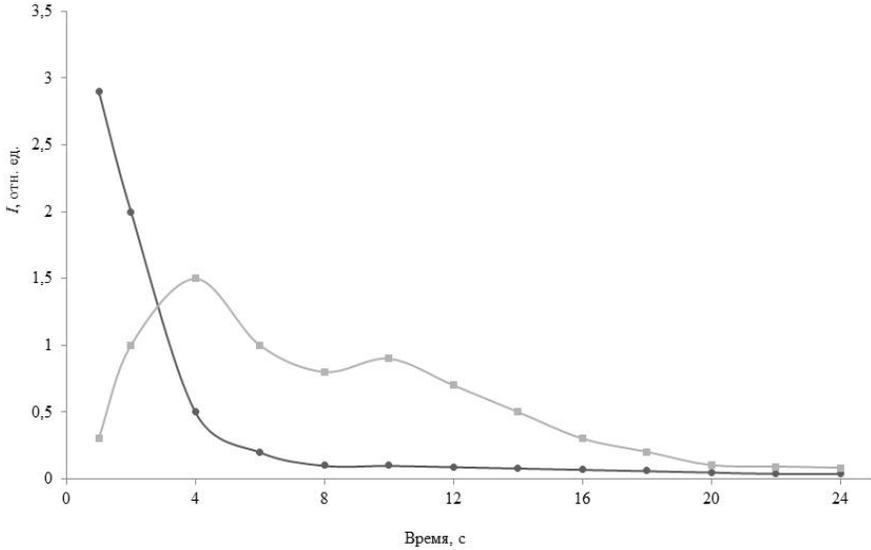


Рис. 3. Зависимости интенсивности аналитической линии Zn (213,86 нм) от времени регистрации спектра: ● — испарение сухого остатка с торца электрода; ■ — классический способ испарения графитового концентрата из канала электрода

Как следует из рис. 2, 3, при классическом способе испарения графитового концентрата из канала электрода характерно постепенное поступление элементов в разряд в течение 20 с, а в случае испарения сухого остатка с торца электрода элементы поступают в зону разряда за 8 с. Поэтому регистрацию спектров при испарении сухого остатка с торца электрода следует осуществлять в течение 8 с. При меньшем времени экспозиции уменьшается накопление фона, что положительно сказывается на соотношении полезный сигнал/шум.

### Результаты и обсуждение

*Подготовка особи клеща к анализу методом сухого остатка.* На электрод с защитной пленкой (раствор полистирола в толуоле) помещали особь клеща, предварительно взвесив ее на аналитических весах. Для устранения органической составляющей пробу минерализовали. Для разложения клеща можно использовать концентрированную  $H_2SO_4$  или смесь концентри-

рованной  $\text{HNO}_3$  с добавкой  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Из литературных данных известно, что полистирол обладает высокой кислото- и щелочестойкостью. Однако он стоек к неорганическим неокисляющим кислотам ( $\text{HCl}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HF}$ ) и довольно легко окисляется. Поэтому для минерализации органической составляющей клеща была выбрана  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . В литературе изучался вопрос возможности образования водорастворимой полистиролсульфокислоты. В [16] показано, что при обработке полистирола серной кислотой образуется водонерастворимый гелеобразный полимер, в котором содержание серы превышает содержание сульфогрупп, что говорит о возможности возникновения поперечных связей между макромолекулами за счет образования сульфоновых групп. Следовательно, защитная полимерная пленка электрода остается такой же водонепроницаемой после обработки серной кислотой, как и до обработки. На этом основании для устранения органической составляющей на электрод с клещом вносили 10 мкл концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и высушивали под ИК-лампой при температуре не выше  $60^\circ\text{C}$ .

*Выбор концентрации легкоионизируемой добавки NaCl.* В эмиссионном анализе для стабилизации температуры плазмы дугового разряда широко применяется  $\text{NaCl}$ . При классическом способе испарения в кратер электрода с пробой или стандартным образцом (СО) вносят 20 мкл полуспиртового раствора натрия хлорида с концентрацией 2,25 мас. % по  $\text{Na}$ . При этом в пробе или СО массой 0,015 г, находящемся в кратере электрода, создается концентрация  $\text{Na}$ , равная 3 мас. %, что вполне достаточно для стабилизации плазмы дугового разряда. Однако при испарении проб сухих остатков с торца электрода оптимальное количество натрия может быть другим. Для выбора количества вносимой добавки  $\text{NaCl}$  на торцы 4 электродов, предварительно подготовленных к анализу, вносили сначала по 10 мкл стандартного раствора элемента с концентрацией 0,1 мг/л, высушивали под ИК-лампой, затем на один из электродов вносили 10, на другой – 20, на третий – 30 мкл 1%-ного раствора  $\text{NaCl}$ . После каждой добавки 10 мкл раствора  $\text{NaCl}$  электрод сушили под ИК-лампой при температуре не выше  $60^\circ\text{C}$ . В один из электродов хлорид натрия не добавляли. Спектры полученных таким образом проб регистрировали в течение 8 с при постоянном токе 13 А на спектрометре «Гранд». Измеряли относительную интенсивность спектральных линий контролируемых элементов ( $\text{Mg}$ ,  $\text{Al}$ ,  $\text{Cu}$ ,  $\text{Zn}$ ) и строили графики зависимости интенсивности их спектральных линий от массы  $\text{NaCl}$  на торце электрода (рис. 4).

Как видно из рис. 4, уже при добавлении 10 мкл 1%-ного раствора  $\text{NaCl}$  интенсивность линий контролируемых элементов достигает максимума. Поэтому введение нескольких добавок  $\text{NaCl}$  нецелесообразно. Однако состав клещей сложный, они могут содержать макрокомпоненты, влияющие на интенсивность определяемых микроэлементов. Поэтому необходимо было количественно их определить в отдельной особи клеща.

*Количественное определение макроэлементов в пробе клеща.* Для определения макроэлементов использовали ранее разработанную унифицированную методику анализа одной особи клеща с применением метода

ДАЭС–МАЭС. Подготовку проб выполняли следующим образом: в чистую прокаленную до постоянной массы кварцевую чашку помещали часть графитового порошка (ГП), на поверхности которого размещали предварительно взвешенную особь клеща и присыпали другой частью графитового порошка (в сумме масса ГП составила 50 мг). Чашку с содержимым прокаливали при температуре 450°C в течение часа. После тщательной гомогенизации зольного остатка его навески массой 0,015 г помещали в графитовый электрод (не менее 3 параллельных) и испаряли из канала (анод) электрода (глубина, диаметр кратера – 0,004, 0,0045 м). Катодом служил электрод, заточенный в форме конуса.

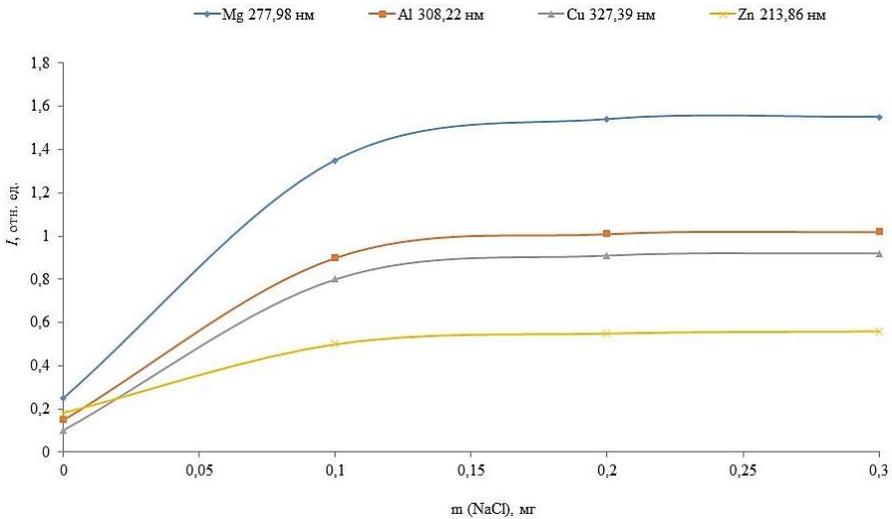


Рис. 4. Зависимость интенсивности аналитических линий Mg 277,98 нм, Al 308,22 нм, Cu 327,39 нм, Zn 213,86 нм от массы NaCl на торце электрода

Анализ проводили на спектрометре «Гранд» относительно ГСО СОГ-37 [11]. В электроды с пробами и образцами сравнения в качестве стабилизирующей добавки вводили 20 мкл полуспиртового раствора натрия хлорида с массовой долей 2,25 мас. %, так чтобы концентрация в пробе Na соответствовала 3 мас. %. Содержание элементов в клеще (табл. 1) рассчитывали по формуле:

$$c(\text{мкг/г}) = \frac{(\bar{x}_{\text{пр}} - \bar{x}_{\text{хол}}) m_{\text{аналита}} \cdot 10^6}{q_{\text{клеща}} \cdot 100},$$

где  $\bar{x}_{\text{пр}}$  – среднее содержание элемента (%), найденное по графику в анализе;  $\bar{x}_{\text{хол}}$  – среднее содержание элемента (%), найденное по графику в холостой пробе;  $m_{\text{аналита}}$  – масса аналита (0,0500 г угольного порошка + 1 клещевая особь) после озоления;  $q_{\text{клеща}}$  – исходная навеска клеща (г);  $10^6/100 = 10^4$  – переводной множитель для пересчета массовой доли (%) в мкг/г.

Таблица 1

**Содержание макроэлементов в одной особи клеща,  
найденное методом ДАЭС–МАЭС ( $n = 3$ ;  $P = 0,95$ )**

№ п/п	Элемент	Содержание элемента	
		В концентрате (аналит), $(\bar{x}_{пр} - \bar{x}_{хол})$ , мас. %	В клеще, мкг/г
1	P	0,018 ± 0,004	9 200 ± 1 840
2	Na*	0,008 ± 0,002	4 200 ± 1 050
3	Ca	0,0064 ± 0,0016	3 200 ± 800
4	K*	0,0051 ± 0,0013	2 550 ± 638
5	Mg	0,0015 ± 0,0005	750 ± 225
6	Fe	0,0011 ± 0,0003	565 ± 170
7	Si	0,0007 ± 0,0002	340 ± 102
8	Al	0,00031 ± 0,00009	155 ± 47

\* Результаты определения элемента получены методом ПФ.

Как следует из данных табл. 1, суммарное содержание в одной особи клеща макроэлементов Na, Ca, K, P (0,004, 0,0032, 0,0026, 0,009 мг соответственно) не превышает содержания вводимой добавки NaCl (0,1 мг Na). Поэтому эффективные параметры плазмы дугового разряда, условия испарения и возбуждения будут задаваться преобладающим элементом (натрий). Они будут одинаковыми как для проб, так и для стандартных образцов и не будут зависеть от макросостава анализируемого объекта.

*Приготовление стандартных образцов и построение градуировочных характеристик для метода сухого остатка.* Образцы сравнения для количественного определения микроэлементов в клещах готовили аналогично пробам, но без клещей: электрод импрегнировали 20 мкл 1%-ного раствора полистирола в толуоле, затем высушивали. Наносили на электрод 10 мкл стандартного раствора суммы элементов определенной концентрации (табл. 2), 10 мкл концентрированной H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 10 мкл 1%-ного раствора NaCl. После каждой процедуры нанесения раствора высушивание проводили под ИК-лампой при температуре, не превышающей 60°C. Спектры полученных таким образом СО регистрировали в течение 8 с при постоянном токе 13 А на спектрометре «Гранд».

Таблица 2

**Данные для построения градуировочного графика Zn 213,86 нм**

№	lgI, отн. ед.	Ст. раствора, г/л	V <sub>ст.</sub> раствора, мкл	m, мкг на электроде	lgm, отн. ед.
1	3,5	0,01	10	0,1	-1
2	2,8	0,001	10	0,01	-2
3	1,6	0,0001	10	0,001	-3
4	0,7	0,00001	10	0,0001	-4
5	-0,8	0,000001	10	0,00001	-5

Растворы сравнения для построения градуировочных графиков готовили путем разбавления бидистиллированной водой стандартных многоэле-

ментных растворов ГСО РМ-2 [17] и ГСО РМ-3 [18] с концентрацией элементов 1 мг/мл. При приготовлении градуировочных растворов использовали способ последовательного разбавления стандартного раствора бидистиллированной водой с уменьшением концентрации в 10 раз. На рис. 5 в качестве примера приведен градуировочный график для количественного определения Zn 213,86 нм.

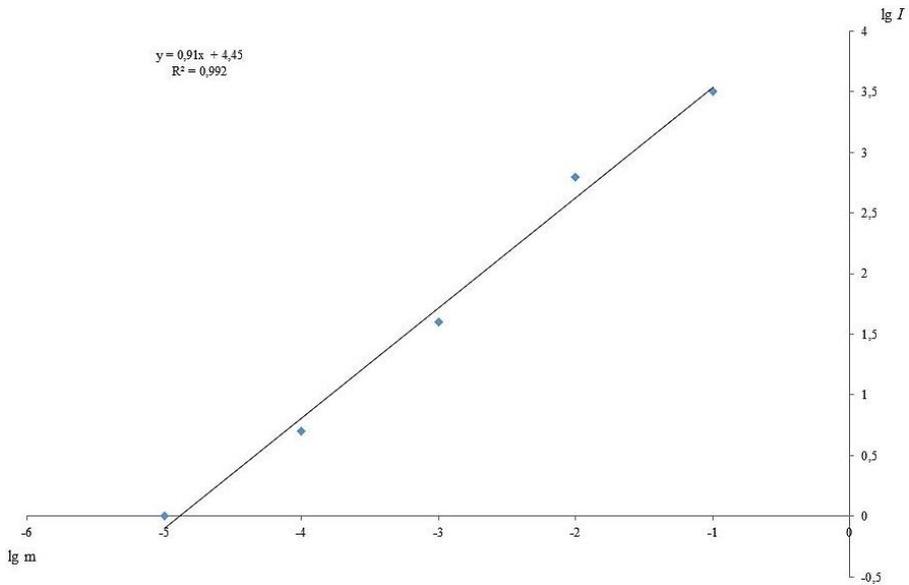


Рис. 5. Градуировочный график для аналитической линии Zn 213,86 нм

*Проверка правильности методики определения микроэлементов методом ДАЭС путем испарения сухого остатка с торца электрода.* Так как каждая проба клеща является уникальной, то проверить правильность результатов ее анализа методом сухого остатка возможно только с использованием стандартных растворов. Для исключения наличия систематической погрешности воспользовались методом удвоения аликвоты одного и того же образца. При отсутствии систематической погрешности при увеличении аликвоты в 2 раза содержание определяемого элемента должно увеличиться также в 2 раза, т.е. должно выполняется равенство

$$2m_1 = m_2,$$

где  $m_1$  – содержание определяемого элемента при  $V_{\text{аликвоты 1}}$  (элемента) = 10 мкл (мкг);  $m_2$  – содержание определяемого элемента при  $V_{\text{аликвоты 2}}$  (элемента) = 20 мкл (мкг).

При наличии систематической погрешности ( $A$ ) такое равенство будет получено только после вычитания:

$$\frac{m_1 - A}{V_{a1}} = \frac{m_2 - A}{V_{a2}}.$$

Поскольку  $V_{a2} = 2V_{a1}$ , то  $A = 2m_1 - m_2$ . Для нахождения величины  $A$  анализировали несколько проб (не менее трех). Вычисляли среднее арифметическое значение  $\bar{A}$  и сравнивали его с нулевым значением по  $t$ -критерию

$$t_A = \frac{|A - 0|}{S_A} \sqrt{m},$$

где  $m$  – число проанализированных проб;  $S_A$  – стандартное отклонение величины  $A$ :

$$S_A = \sqrt{\frac{\sum(A_i - \bar{A})^2}{m - 1}}.$$

Вычисленное значение  $t_A$  сравнивали с табличным  $t_{(P=0,95; n=3)} = 4,3$ . Если  $t_A < t_{\text{табл}}$ , то постоянная систематическая погрешность отсутствует.

Для проверки правильности методики образцы готовили аналогично пробам, но без клещей. Электроды импрегнировали 20 мкл 1%-ного раствора полистирола в толуоле, затем высушивали. На одну серию электродов наносили 10 мкл стандартного раствора определяемого элемента с  $c(M) = 0,0001$  г/л, 10 мкл концентрированной  $H_2SO_4$ , 10 мкл 1%-ного раствора NaCl. На вторую серию электродов – 20 мкл стандартного раствора того же элемента с  $c(M) = 0,0001$  г/л, 10 мкл концентрированной  $H_2SO_4$ , 10 мкл 1%-ного раствора NaCl. После каждой процедуры нанесения проводили высушивание под ИК-лампой при температуре, не превышающей  $60^\circ C$ . Спектры полученных таким образом проб регистрировали в течение 8 с при постоянном токе 13 А на спектрометре «Гранд». По градуировочным характеристикам для контролируемых элементов определяли их содержание в стандартных образцах и по полученным данным проводили проверку правильности (т.е. определяли наличие / отсутствие систематической погрешности) (табл. 3).

Таблица 3

**Проверка правильности определения Co 242,49 нм, Pb 280,19 нм,  
Be 234,86 нм методом сухого остатка ( $n = 3; P = 0,95; t_{\text{табл}} = 4,3$ )**

Элемент	Введено $c(M) = 0,0001$ г/л		Найдено на электроде		$A = 2m_1 - m_2$	$S_A$	$t_A$
	$V_1$ , мкл	$V_2$ , мкл	$m_1$ , мкг	$m_2$ , мкг			
Co	10	20	0,00092	0,0019	$6 \cdot 10^{-5}$	$2,3 \cdot 10^{-5}$	3,5
			0,00101	0,0020	$2 \cdot 10^{-5}$		
			0,00102	0,0021	$6 \cdot 10^{-5}$		
Pb	10	20	0,00085	0,00180	$1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	1,1
			0,00990	0,00210	$1,8 \cdot 10^{-2}$		
			0,00111	0,00214	$8,0 \cdot 10^{-5}$		
Be	10	20	0,0009	0,0019	$1 \cdot 10^{-4}$	$5,8 \cdot 10^{-5}$	4,0
			0,0011	0,0020	$2 \cdot 10^{-4}$		
			0,0012	0,0023	$1 \cdot 10^{-4}$		

Как следует из данных табл. 3,  $t_A < t_{\text{табл}}$ , следовательно систематическая погрешность определения микроэлементов методом сухого остатка отсутствует.

*Результаты количественного определения микроэлементов в единичной особи клеща, полученные по разработанной методике.* Учитывая условия, подобранные выше, можно предложить следующую методику анализа пробы одной особи клеща методом ДАЭС–МАЭС путем возбуждения сухого остатка с торца электрода.

Графитовые стержни марки ос. ч–7–4 обтачивали с помощью металлических фрез для придания им нужной формы: один электрод затачивали на конус, другой – на плоский торец, слегка вогнутый, в виде лунки. Электроды обжигали в дуге постоянного тока при  $I = 13$  А в течение 8 с. После обжига электрод, заточенный на плоский торец, импрегнировали 20 мкл 1%-ного раствора полистирола в толуоле, высушивали. После испарения толуола на электрод с защитной пленкой помещали предварительно взвешенную на аналитических весах особь клеща, вносили 10 мкл концентрированной  $H_2SO_4$ , высушивали. И в конце наносили на электрод 10 мкл 1%-ного раствора NaCl. После каждой процедуры высушивание проводили под ИК-лампой при температуре, не превышающей  $60^\circ C$ .

Таблица 4

**Содержание микроэлементов в единичной особи клеща, найденное методом дуговой атомно-эмиссионной спектроскопии путем возбуждения сухого остатка с торца электрода**

№	Элемент	Содержание в клеще, мкг	№	Элемент	Содержание в клеще, мкг
1	Mn	$0,064 \pm 0,016$	10	Sn	$0,0034 \pm 0,0010$
2	Zn	$0,0045 \pm 0,0014$	11	Pb	$0,0013 \pm 0,0004$
3	B	$0,0037 \pm 0,0011$	12	Mo*	$< 0,0010$
4	Ba	$0,0026 \pm 0,0009$	13	Sb	$0,0007 \pm 0,0002$
5	Ti*	$< 0,0010$	14	Co	$0,00060 \pm 0,00018$
6	Cr	$0,0021 \pm 0,0006$	15	Li	$0,00025 \pm 0,00008$
7	Ni	$0,0017 \pm 0,0005$	16	Be	$0,000010 \pm 0,000003$
8	Cu	$0,009 \pm 0,002$	17	Cd	$< 0,00001$
9	Rb	$0,0054 \pm 0,0016$	18	Se	$< 0,00001$

\* Содержание указанных элементов ограничено величиной холостого опыта.

Спектры полученных таким образом проб регистрировали в течение 8 с при постоянном токе 13 А на спектрометре «Гранд». Данные количественного анализа из программного обеспечения «Атом» экспортировали в MS Excel, где пересчитывали содержание микроэлементов в микрограммах. Полученные результаты анализа пробы клеща представлены в табл. 4.

### **Заключение**

Методами ДАЭС–МАЭС, ФП определено содержание макроэлементов в клещах. Показано, что основными элементами (в порядке убывания, в мкг/г) являются Р ( $9\ 200 \pm 1\ 050$ ), Na ( $4\ 200 \pm 1\ 050$ ), Ca ( $3\ 200 \pm 800$ ), К ( $2\ 550 \pm 638$ ). Для повышения чувствительности метода ДАЭС, как одного из самых доступных и простых, проведены исследования по возможности анализа единичной особи клеща на содержание микроэлементов путем испарения сухого остатка с торца электрода. Выбраны оптимальные условия: время обжига электрода дугой постоянного тока 13 А – 8 с; время экспозиции – 8 с; количество усиливающей добавки NaCl – 0,1 мг на электрод. Предложена методика количественного определения микроэлементов в индивидуальных особях клещей методом ДАЭС путем испарения сухого остатка с торца электрода. Правильность методики доказана путем анализа стандартного образца методом удвоения аликвоты. По предложенной методике проведен анализ единичной пробы, показана возможность количественного определения до 18 микроэлементов, содержание которых в клеще составляет  $n \cdot 10^{-6}$  мкг и выше, с воспроизводимостью результатов 20–25% отн.

Предложенная методика может быть использована для определения влияния элементного состава отдельных особей клещей на зараженность возбудителями природно-очаговых инфекций.

### **Литература**

1. Романенко В.Н. Мониторинг видового состава и численности иксодовых клещей (Parasitiformes, Ixodidae) в антропогенных биотопах // Вестник Томского государственного университета. 2009. № 324. С. 376–379.
2. Романенко В.Н., Чекалкина Н.Б. Видовой состав иксодовых клещей на территории г. Томска // Вестник Томского государственного университета. Сер. Естественные науки, приложение. 2004. № 11. С. 680–683.
3. Балашов Ю.С. Иксодовые клещи – паразиты и переносчики инфекций. СПб. : Наука, 1998. 287 с.
4. Чичерина Г.С., Морозова О.В., Панов В.В и др. Сравнительный анализ зараженности голодных иксодовых клещей *Ixodes pavlovskyi* и *Ixodes persulcatus* вирусом клещевого энцефалита в зоне симпатрии их ареалов // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015. Т. 20, № 1. С. 20–26.
5. Алексеев А.Н., Дубинина Е.В., Юшкова О.В. Функционирование паразитарной системы «клещ–возбудители» в условиях усиливающегося антропогенного пресса. СПб. : Инсанта, 2008. 146 с.
6. Мишаева Н.П., Горбунов В.А., Алексеев А.Н. Влияние тяжелых металлов на биологию иксодовых клещей и их зараженность возбудителями природно-очаговых ин-

- фекций // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. 2013. № 1 (9). С. 83–86.
7. Отмахов В.И., Рабцевич Е.С., Горст Д.А., Петрова Е.В., Бабенков Д.Е. Создание методики определения элементного состава клещей для оценки их восприимчивости к возбудителям клещевых инфекций // Вестник Томского государственного университета. Химия. 2018. № 11. С. 23–31.
  8. Отмахов В.И. Методологические особенности создания методик атомно-эмиссионного анализа различных объектов // Аналитика и контроль. 2005. Т. 9, № 3. С. 245–249.
  9. Отмахов В.И., Петрова Е.В. Атомно-эмиссионный анализ биологических объектов с целью проведения экомониторинга районов Томской области и Горного Алтая // Известия Томского политехнического университета. 2004. Т. 307, № 1. С. 73–77.
  10. Отмахов В.И. Методика оценки экологической безопасности водного бассейна по загрязнению донных отложений // Известия Томского политехнического университета. 2004. Т. 306, № 6. С. 39–41.
  11. ГСО 8487–2003. Стандартные образцы состава графитового коллектора микропримесей (комплект СОГ-37). Екатеринбург : УГТУ–УПИ, 2003.
  12. МУК 4.1.1482–03. Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой : методические указания / Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрав России. М., 2003. 56 с.
  13. Соломенцева Н.С., Шуваева О.В. Определение микроэлементов в природных водах методом атомно-эмиссионной спектроскопии сухих остатков на торцах графитовых электродов // Журнал аналитической химии. 2007. № 7. С. 719–723.
  14. Лабусов В.А., Гаранин В.Г., Зарубин И.А. Новые спектральные комплексы на основе аналитических анализаторов МАЭС // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2017. Т. 83, № 1-II. С. 15–20.
  15. Отмахов В.И., Петрова Е.В. Оптимизация условий проведения атомно-эмиссионного спектрального анализа порошковых проб сложного состава на графитовой основе // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2012. Т. 78, № 1-2. С. 82–85.
  16. Тевлина А.С., Тростянская Е.Б. Синтез растворимых полиэлектролитов сульфированием полистирола // Высокомолекулярные соединения. 1963. Т. 5, № 8. С. 1178–1182.
  17. ГСО 7272–96. Стандартный образец состава водного раствора ионов металлов РМ-2 (железо, никель, свинец, марганец, цинк) . Екатеринбург : УГТУ–УПИ, 2016.
  18. ГСО 7325–96. Стандартный образец состава водного раствора ионов металлов РМ-3 (алюминий, мышьяк, кадмий, кобальт, хром, медь) . Екатеринбург : УГТУ–УПИ, 2016.

#### **Информация об авторах:**

**Отмахов Владимир Ильич**, доктор технических наук, профессор кафедры аналитической химии Национального исследовательского Томского государственного университета (Томск, Россия). E-mail: [otmahov2004@mail.ru](mailto:otmahov2004@mail.ru)

**Петрова Елена Васильевна**, кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии Национального исследовательского Томского государственного университета (Томск, Россия). E-mail: [elena1207@sibmail.com](mailto:elena1207@sibmail.com)

**Кускова Ирина Сергеевна**, кандидат химических наук, инженер-исследователь лаборатории мониторинга окружающей среды Национального исследовательского Томского государственного университета (Томск, Россия). E-mail: [kuskova.i@mail.ru](mailto:kuskova.i@mail.ru)

**Черепанова Инна Сергеевна**, студентка Национального исследовательского Томского государственного университета (Томск, Россия). E-mail: [tcherepanova.inna.97@gmail.com](mailto:tcherepanova.inna.97@gmail.com)

**V.I. Otmakhov, E.V. Petrova, I.S. Kuskova, I.S. Cherepanova**

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

**Toxic elements in ticks determined by atomic emission spectrometry to assess their effect on infectious diseases with natural foci**

*In recent years, the attention of ecologists and epidemiologists has been attracted to new research into infectious diseases with natural foci, namely the prediction of their spread in the conditions of global warming leading to the expansion of the ixodic tick habitat and industrial environmental pollution. To date, the obtained sufficient data show that vehicle emissions containing such heavy metal ions as Cd, Zn, Cu, Pb, Ni, Mn, Fe, and Co lead to a degradation of ecosystems due to atmospheric air, water and soil pollution, along highways, in particular. Vehicle emissions reach 79% of the total environmental release. It is found that the soil contamination with heavy metals affects the biology and morphology of ticks, decreases their immunity, resulting in the increased susceptibility of ticks to pathogens. Heavy metals have the most harmful effect on flora and fauna. This paper studies the possibility of using the atomic emission spectroscopy by evaporating the dry residue from the end of the graphite electrode to quantify the trace elements in ticks. Research is carried out in the accredited Environmental Monitoring Laboratory of the Tomsk Regional Core Facility Centre at National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). The spectrographic analysis is performed on a Grand atomic emission spectrometer with a fast multichannel analyzer of the emission spectra. Based on the results obtained, the analytical procedure is proposed for the toxic and potentially toxic element concentration in an individual tick, with the use of state standard reference samples of an aqueous solution of salts. The doubling method is used to prove no accuracy error on the model samples. The proposed analytical procedure allows quantifying up to 18 trace elements, the content of which in a tick is  $n \cdot 10^{-6}$   $\mu\text{g}$  and higher, with a relative standard deviation of 20–25%.*

**Keywords:** *heavy metals, biological object, tick, atomic emission spectrometry, dry residue, measurement procedure.*

**References**

1. Monitoring of the species composition and abundance of ixodid ticks (Parasitiformes, Ixodidae) in anthropurgic biotopes. *Vestnik TGU*. 2009; 324; 376–379.
2. Romanenko V.N.; Chekalkina N.B. Species composition of ixodid ticks in the territory of Tomsk. *Vestnik TGU. Seriya «Estestvennye nauki», prilozhenie*. 2004; 11; 680–683.
3. Balashov Yu.S. Ixodid ticks – parasites and vectors of infections; Nauka: SPb., 1998; s. 287.
4. Chicherina G.S.; Morozova O.V.; Panov V.V i dr. Comparative analysis of the infection of hungry ixodid ticks *Ixodes pavlovskyi* and *Ixodes persulcatus* with tick-borne encephalitis virus in the sympatric zone of their ranges. *Epidemiologiya i infekcionnye bolezni*. 2015; 20; № 1; 20–26.
5. Alekseev A.N.; Dubinina E.V.; Yushkova O.V. [The functioning of the parasitic system "mite-pathogens" in the conditions of an intensifying anthropogenic pressure. SPb., 2008; c. 146.
6. Mishaeva N.P.; Gorbunov V.A.; Alekseev A.N. The influence of heavy metals on the biology of ixodid ticks and their infection with pathogens of natural focal infections. *Mediko-biologicheskie problemy zhiznedeyatel'nosti*. 2013; № 1 (9); 83–86.

7. Otmakhov V.I.; Rabcevic E.S., Gorst D.A., Petrova E.V., Babenkov D.E. Creation of a method for determining the elemental composition of ticks to assess their susceptibility to pathogens of tick-borne infections. *Vestnik TGU. Himiya*. 2018; 11; 23–31.
8. Otmakhov V.I. Methodological features of creating techniques for atomic emission analysis of various objects. *Analitika i kontrol'*. 2005; T. 9; № 3; 245–249.
9. Otmakhov V.I.; Petrova E.V. Atomic emission analysis of biological objects for the purpose of environmental monitoring of the regions of the Tomsk region and Gorny Altai. *Izvestiya TPU*. 2004; T. 307; № 1; 73–77.
10. Otmakhov V.I. Methodology for assessing the ecological safety of a water basin for pollution of bottom sediments. *Izvestiya TPU*. 2004; T. 306; № 6; 39–41.
11. GSO 8487–2003. Standard samples of the composition of the graphite collector of trace impurities (set SOG-37). UGTU-UPI: Ekaterinburg, 2003.
12. MUK 4.1.1482–03. Determination of Chemical Elements in Biological Media and Preparations by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Guidelines. Federal'nyj centr gossanepidnadzora Minzdrav Rossii: Moskva, 2003; s. 56.
13. Solomentceva N.S.; O.V. Shuvaeva. Determination of trace elements in natural waters by atomic emission spectrometry of dry residues at the ends of graphite electrodes. *Zhurnal analiticheskoy himii*. 2007; 7; 719–723.
14. Labusov V.A.; Garanin V.G.; Zarubin I.A. New spectral complexes based on MAES analytical analyzers. *Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov*. 2017; 83; № 1-II; 15–20.
15. Otmakhov V.I.; Petrova E.V. Optimization of conditions for atomic emission spectral analysis of powder samples of complex composition on a graphite base. *Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov*. 2012; 78; № 1–2; 82–85.
16. Tevlina A.S.; Trostyanskaya E.B. Synthesis of soluble polyelectrolytes by sulfonation of polystyrene. High molecular weight compounds. *Vysokomolekulyarnye soedineniya*. 1963; 5; № 8; 1178–1182.
17. GSO 7272–96. Standard sample of the composition of an aqueous solution of metal ions PM-2 (iron, nickel, lead, manganese, zinc). UGTU-UPI: Ekaterinburg, 2016.
18. GSO 7325–96. Standard sample of the composition of an aqueous solution of metal ions PM-3 (aluminum, arsenic, cadmium, cobalt, chromium, copper)]. UGTU-UPI: Ekaterinburg, 2016.

**Information about the authors:**

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

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

**Kuskova Irina**, PhD, engineer-researcher, Laboratory of environment monitoring, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). E-mail: kuskova.i@mail.ru

**Cherepanova Inna**, 5th year student, Analytical Chemistry Department, National Research Tomsk State University (Tomsk, Russia). E-mail: tcherepanova.inna.97@gmail.com