

ПРОБЛЕМНАЯ СТАТЬЯ

ПОТЕРИ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ ПРИ СУХОМ ОЗОЛЕНИИ ОБРАЗЦОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

LOSSES OF CHEMICAL ELEMENTS IN BIOLOGICAL SAMPLES UNDER THE DRY ASHING PROCESS

В.Е. Зайчик
V.Ye. Zaichick

Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск 249020; e-mail: vezai@obninsk.com
Medical Radiological Scientific Centre RAMS, Obninsk 249020, Russia; e-mail: vezai@obninsk.com

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биоткани, пробоподготовка, минерализация, химические элементы, нейтронно-активационный анализ.

KEY WORDS: Biological materials, dry ashing, chemical elements, neutron activation analysis.

РЕЗЮМЕ: Методом инструментального нейтронно-активационного анализа (ИНАА) определены потери содержания Al, Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Mn, Na и Sr в образцах тканей легкого, щитовидной и предстательной железы человека при их минерализации путем сухого озоления. Показано, что в наибольшей степени при озолении из образцов улетучиваются галогены. Средние потери Cl достигали 88%, Br — 95%, I — 100%. Однако и для металлов, таких, например, как Ca, K, Mg и Na обнаружены потери, достигающие нескольких десятков процентов. Ввиду значительности, практической бесконтрольности и непредсказуемости потерь, сделан вывод, что сухое озоление не может быть использовано для количественного анализа содержания химических элементов в биоматериалах.

ABSTRACT: The losses of nine chemical elements in biological tissues were determined under condition of dry ashing. Autopsy samples of lung, thyroid and prostate tissues were taken from three men died in an accident. Instrumental neutron activation analysis (INAA) was used to estimate contents of Al, Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Mn, Na, and Sr in the frozen samples. Nuclear reactor horizontal channel with flux density of $1.7 \cdot 10^{13} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ was used for neutron irradiation. Analyzed were short-lived radionuclides induced in samples during neutron irradiation. After a month decay in the cooler the same samples were dried at 110°C for 5 days and then muffle-burnt at 450°C for 3 days up to complete ashing. Ash samples were studied by INAA again. Sample halogens volatilized during ashing to a highest degree. Losses of Cl, Br and I were 88, 95 and 100%, respectively. However, losses of such metals as Ca, K, Mg and Na were found to range several tens of per cent as well. So far as these losses are very significant and unpredictable,

it does not follow that dry ashing can be used for precise analysis of the chemical element contents in biological materials.

Со времен великого Фрезениуса (Fresenius et al., 1844) аналитики заняты поиском путей минерализации биологических образцов с целью последующего анализа содержания в них химических элементов. Задача заключается в том, чтобы полностью удалить органическую матрицу, сохранив без привнесений или потерь минеральную компоненту. Без минерализации биообразцов (предшествующей или одновременной с анализом) невозможна реализация существующих аналитических методов. Исключение составляют лишь ядерно-физические методы (нейтронно-активационный анализ, гамма-активационный анализ, активационный анализ на заряженных частицах, рентгенофлуоресцентный анализ и некоторые другие), которые позволяют определять содержание ряда химических элементов в биологических образцах без их деструкции. Однако использование для анализа минерализованных биообразцов значительно расширяет возможности и ядерно-физических методов. Например, в случае нейтронно-активационного анализа (НАА) представляется возможным значительно увеличить интегральные потоки нейтронов при облучении минерализованных биообразцов и, тем самым, расширить спектр определяемых элементов и улучшить пределы определения. Помимо этого, минерализованные образцы очень удобны для хранения, поскольку занимают гораздо меньше места и не портятся при обычной комнатной температуре.

Классическим методом минерализации является взаимодействие биоматериалов с кислородом воздуха. Для активации кислорода воздух разогревают

до температуры в несколько сот градусов. Протекающие реакции окисления являются экзотермическими, в результате чего температура внутри биообразца не контролируема и может значительно превышать температуру окружающего воздуха. При окислении органическая матрица разрушается и в виде газообразных продуктов покидает биообразец, на месте которого остается лишь минеральная компонента в виде золы. Отсюда происходит название метода — “сухое” озоление. Для сухого озоления обычно используют муфельную печь, в которой выдерживают биообразцы при температуре от 450° до 900°С в течение нескольких десятков часов. Способ очень прост и поэтому получил самое широкое распространение.

Давно было замечено, однако, что сухое озоление приводит к серьезным потерям некоторых химических элементов. Эти потери связаны с тем, что из-за высокой температуры часть химических элементов может улетучиваться из биообразца, а также образовывать с материалом тигля плохо растворимые и потому трудноудаляемые с его поверхности соединения.

Реально прецизионные исследования потерь химических элементов при сухом озолении стали возможны лишь в 1950-х гг. с появлением довольно широкого ассортимента радионуклидных маркеров. Уже в конце 1950-х гг. появился обзор (Gorsuch, 1959), в котором цитировалось около тридцати работ, касающихся только этого вопроса. Было показано, что потери различных химических элементов зависят не только от их физических характеристик (точка плавления и кипения) и температурного режима (скорость разогрева, максимальная температура, продолжительность пиролиза), но и от многих других причин. Среди них – вид материала, его агрегатное состояние, химические формы элементов, материал тигля и др. Было обнаружено, что некоторые элементы могут полностью улетучиваться из биообразца в процессе пиролиза (Hg, Se), другие — в значительной степени (Ag, As, Cd). Потери таких элементов как Cu, Fe и Zn оценивались доходящими до 50–60%. Более оптимистичные выводы были сделаны относительно таких металлов, как Ca, K, Mg, Na. Предполагалось, что для этих элементов потери должны быть незначительными и уж никак не превышающими 10% (Gorsuch, 1970). Однако фактического материала по этим элементам было явно недостаточно.

Исследования потерь химических элементов при различных способах минерализации биоматериалов, включая сухое озоление, продолжают до настоящего времени на базе современной аналитической техники. Цель этих исследований — не только уточнение ранее полученных результатов, но и расширение набора элементов, а также поиск оптимальных режимов пиролиза, исключающих или обеспечивающих минимальные потери. Среди доступных нам работ были выбраны только те, в которых использовались наиболее “щадящие” температур-

ные режимы от 450 до 600°С. Результаты этих исследований были сгруппированы по элементам и уровням потерь (табл. 1).

Прежде всего, собранные результаты поражают своей противоречивостью. Для многих элементов, например, Al, Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Na, имеющаяся информация крайне ограничена. Во всех цитируемых работах, за исключением лишь двух (Alexander, 1962; Bagliano et al., 1972), использовался метод радиоактивных индикаторов. Необходимо отметить, однако, что, при всех неоспоримых преимуществах этого метода, ему присущ один серьезный недостаток. Химические формы, в которых присутствует радиоактивный индикатор в исследуемых биоматериалах, далеко не всегда адекватно отражают реальную ситуацию с соответствующим нативным элементом. Это связано с тем, что метаболизм многих химических элементов в живом организме протекает сравнительно медленно, и требуются месяцы и даже годы хронического введения радиоиндикатора для того, чтобы его распределение по химическим формам полностью повторяло распределение стабильного элемента.

В этой связи ядерно-физические методы и, в частности, инструментальный нейтронно-активационный анализ (ИНАА) по короткоживущим радионуклидам предоставляют исследователю потерь химических элементов при различных способах подготовки образцов к анализу уникальную возможность, позволяя анализировать одни и те же образцы в свежем виде и после той или иной их обработки.

Материалы и методы

У трех мужчин, погибших в результате несчастного случая, на аутопсиях были взяты образцы тканей легкого, щитовидной и предстательной железы. Образцы массой около 4–5 г отбирали с помощью титанового ножа и помещали в полиэтиленовые ампулы объемом 5 мл. Перед использованием ампулы были вымыты ацетоном и спиртом-ректификатом, промаркированы и взвешены. Образцы тканей, помещенные в ампулы, взвешивали и хранили до проведения анализа в холодильнике при температуре –5°С. Непосредственно перед облучением проводили более глубокое охлаждение ампул с образцами сухим льдом. Охлаждение осуществлялось также и во время облучения в канале реактора, для чего сухим льдом заполняли свободное пространство транспортного контейнера. После первого облучения и спектрометрических измерений образцы выдерживали в замороженном виде в течение месяца, после чего вынимали их из ампул и на фарфоровых тиглях помещали в сушильный шкаф с температурой 110°С на пять суток. После сушки образцы на тех же тиглях помещали в муфельную печь с температурой 450° на трое суток до полного озоления. Образовавшуюся в тиглях золу перемешивали и отбирали пробы массой около 10 мг, которые запаивали в вымытую спиртом полиэтиленовую пленку для ИНАА. Фарфоровые

Таблица 1. Данные литературы о потерях в % химических элементов при сухом озолении биологических материалов при температуре от 450° до 600°С.

Элемент	Нет потерь	до 5	от 6 до 25	от 26 до 50	более 50	100
Ag	24	13	9, 13	8	–	–
Al	10	–	13	15	–	–
As	5	–	9	13	8, 20	20
Au	–	–	–	–	8	–
Ba	10	13	–	–	–	–
Be	10	–	–	–	–	–
Br	10	–	–	–	–	15
Ca	5	12	–	–	–	–
Cd	16, 24	13	9, 17, 25	3	20	–
Ce	–	20	22	–	–	–
Cl	–	–	–	–	15	15
Co	5, 15, 23	8, 9, 20	13, 22	3, 22	–	–
Cr	16	8, 9, 13, 20	13	–	5	15
Cs	5	–	10	–	15	–
Cu	8	4, 13	9, 25	3, 10	–	–
Eu	5	–	–	–	–	–
Fe	4, 5, 13, 16	4, 9, 10, 13	5, 10, 25	3	–	–
Hg	–	8	–	–	–	9
I	–	–	–	–	21	–
K	15	–	10	–	12	–
La	5	20	–	–	–	–
Li	–	–	10	–	–	–
Mg	10	–	–	–	–	–
Mn	10, 15	8, 13	22, 25	–	–	–
Mo	8	9, 13	–	–	–	–
Na	15	13	10, 12	–	–	–
Nd	–	20	–	–	–	–
Ni	–	13	13	13	–	–
Pa	–	–	22	–	–	–
Pb	8, 11, 12	9, 13, 14, 26	7, 13, 19	2, 3, 26	25, 26	–
Ra	10	–	–	–	–	–
Rb	5	–	10	–	–	–
Ru	–	–	–	22	–	–
Sb	24	9	1	5, 8	–	–
Sc	5	–	–	–	–	–
Se	–	–	–	–	–	9
Sm	–	20	–	–	–	–
Sn	–	13	13	–	–	–
Sr	10	9, 13	13	–	–	–
Th	5	–	–	–	–	–
Tl	–	20	–	–	–	–
V	6	–	18	18	15, 18	–
Zn	5, 8, 9, 13, 16, 23	4, 7, 13	23, 25	3, 10, 22	–	–

1 — Лапин, 1962; 2 — Тюхтенева, 1961; 3 — Юдина и др., 1997; 4 — Alexander, 1962; 5 — Bagliano et al., 1972; 6 — Damsgaard et al., 1972; 7 — Garlicka et al., 1984; 8 — Gleit et al., 1962; 9 — Gorsuch, 1959; 10 — Gorsuch, 1970; 11 — Gross et al., 1975; 12 — Hislop et al., 1972; 13 — Iyengar et al., 1980; 14 — Kello et al., 1975; 15 — Koh et al., 1999; 16 — Koirtyohann et al., 1976; 17 — Kucera et al., 1995; 18 — Levstek et al., 1972; 19 — Petrow et al., 1965; 20 — Pietra et al., 1982; 21 — Shi et al., 1998; 22 — Strohal et al., 1969; 23 — Van Raaphorst et al., 1974; 24 — Van Raaphorst et al., 1978; 25 — Watling et al., 1979; 26 — Xue et al., 1987.

тигли с образцами взвешивали до сушки, после сушки и после озоления, чтобы определить коэффициенты перехода от золы к сухой и сырой ткани.

Для анализа образцов свежей ткани использовали стандарты, приготовленные из растворов неорганических соединений. Для их приготовления ис-

пользовали химически чистые препараты и бидистиллированную воду. Стандартные растворы наливали в такие же по форме и объему ампулы, которые использовали для образцов ткани. Перед и во время облучения ампулы со стандартными растворами охлаждали сухим льдом.

Таблица 2. Относительные потери химических элементов (в %) при сухом озолении (450°C) образцов некоторых тканей тела человека по данным ИНАА.

Элемент	Собственные данные				Данные литературы	
	Легкое	Щитовидная железа	Предстательная железа	Диапазон	Диапазон	Авторы
Al	63*	68*	62***	62–68	0–35	Gorsuch, 1970; Koh et al., 1999
Br	95*	64*	65**	64–5	0–100	Gorsuch, 1970; Koh et al., 1999
Ca	78*	26*	22	22–78	0–<5	Bagliano et al., 1972; Hislop et al., 1972
Cl	86*	88*	48**	48–88	75–100	Koh et al., 1999
I	–	100*	–	до 100	37–84	Shi et al., 1998
K	76**	28*	25	25–76	<10–55	Koh et al., 1999; Hislop et al., 1972
Mg	85*	58*	37***	37–85	0	Gorsuch, 1970
Mn	89***	81**	47**	47–89	0–23	Koh et al., 1999; Watling et al., 1979
Na	90*	58*	22	22–90	≤10	Gorsuch, 1970; Hislop et al., 1972
Sr	–	–	72**	до 72	0–16	Gorsuch, 1970; Iyengar et al., 1980

* $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,05$

Для анализа проб золы использовали сухие стандарты. Стандарты готовили путем нанесения с помощью микропипетки 10 мкл стандартных растворов на диски из беззолных фильтров диаметром 7 мм, которые высушивали в замороженном виде в вакууме и запаивали в полиэтиленовую пленку. Помимо собственных стандартов использовали стандарты на основе фенол-формальдегидной смолы — ССБ-2 и ССБ-3, приготовленные в Институте физики Грузинской Академии Наук (Rouchand et al., 1986; Zaichick, 1995).

В образцах свежей и озоленной ткани содержание Al, Br, Ca, Cl, I, K, Mg, Mn, Na и Sr определяли методом ИНАА по короткоживущим радионуклидам. Для облучения нейтронами использовали горизонтальный канал ядерного реактора ВВР-ц, оборудованный пневмопочтой и системой воздушного охлаждения. Плотность потока нейтронов в канале — $1,7 \cdot 10^{13}$ нейтр-см⁻²·с⁻¹. Каждый образец свежей и озоленной ткани, а также стандарты облучали раздельно в течение 30 с. Для прецизионного определения потока нейтронов при каждом облучении в транспортный контейнер вместе с образцом или стандартом помещали монитор из медной фольги. Через минуту после облучения проводили первое спектрометрическое измерение в течение 5–10 мин., а спустя 120–180 мин. — второе измерение в течение 10–20 мин. При первом измерении оценивали интенсивность излучения радионуклидов ²⁸Al (1779 КэВ), ⁴⁹Ca (3085 КэВ), ³⁸Cl (1642 и 2167 КэВ), ¹²⁸I (443 КэВ), ²⁷Mg (844 КэВ), при втором — ⁸²Br (776 КэВ), ⁴²K (1524 КэВ), ⁵⁶Mn (847 КэВ), ²⁴Na (1369 и 2754 КэВ), ^{87m}Sr (388,5 КэВ).

Для спектрометрических измерений использовали установку, включающую 40 см³ Ge(Li)-детектор и многоканальный анализатор, соединенный on-line с персональным компьютером. Интенсивность

излучения радионуклидов оценивали по полной площади соответствующих фотопиков. Расчет концентраций проводили относительным способом, сопоставляя интенсивность излучения радионуклидов в образцах и внутрилабораторных стандартах.

Правильность и точность полученных результатов контролировали путем параллельного исследования содержания элементов в международных стандартных материалах сравнения МАГАТЭ — Н-4 (мышцы животных), А-13 (кровь животных) и Н-5 (костная ткань животных). Навески массой 30–50 мг стандартных материалов сравнения запаивали в полиэтиленовую пленку, облучали и измеряли в тех же условиях, что и образцы озоленной ткани, сухие стандарты собственного приготовления и стандарты ССБ.

Статистическую оценку надежности различий результатов, полученных для свежей и озоленной ткани, проводили с использованием t-теста Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Полученные данные о содержании Br, Ca, Cl, K, Mg и Na в стандартных материалах сравнения МАГАТЭ находились в пределах 95% доверительного интервала соответствующих значений в сертификатах (Zaichick, 1995). Хорошее совпадение подтвердило правильность полученных результатов и точность использованного метода анализа.

Средние значения относительных потерь химических элементов при использованном способе пиролиза тканей легкого, щитовидной и предстательной железы человека, а также обнаруженные диапазоны средних значений потерь химических элементов в сопоставлении с данными литературы приведены в таблице 2.

Малочисленность опубликованных данных о потерях йода и хлора, вероятно, можно объяснить достаточно хорошо известной летучестью этих галогенов. По нашим данным, при озолении мягких тканей тела человека из них исчезает 100% йода и до 88% хлора. С этими результатами хорошо согласуются и обнаруженные уровни потерь брома и хлора из образцов растений, которые могут достигать 100% (Koh et al., 1999). Более того, быстрое испарение галогенов при нагревании биологических образцов используется во многих современных методах анализа (Shiraishi et al., 1999; Amachi et al., 2000). В этой связи вызывает удивление заключение Bagliano с соавт. (1972) об отсутствии потерь брома, содержание которого он определял методом НАА в растительных образцах до и после их озоления при 450°C в течение 32 часов.

Поскольку, по мнению Gorsuch (1970), Na, K, Mg, Ca и Sr содержатся в биоматериалах в основном в виде хлоридов, точка плавления которых находится выше 700°C, пиролиз при температуре 500°C не должен приводить к потерям этих элементов. Вероятно, убедительность этого логического заключения объясняет почти полное отсутствие в 1970–90-х гг. исследований, нацеленных на его проверку на новой аналитической базе. Однако даже те немногочисленные данные, которые были опубликованы в этот период, показывают, что потери металлов в биологических образцах при пиролизе могут быть весьма существенными (Hislop et al., 1972; Iyengar et al., 1980, Koh et al., 1999). Так, с использованием радиоактивных индикаторов было обнаружено, что при сжигании ребра человека в муфеле потери калия достигают 55% (Hislop et al., 1972). Методом НАА выявлены существенные потери при озолении растительных образцов таких металлов, как Al, Cs, V (Koh et al., 1999). В этом же исследовании было показано, что потери хрома могут составлять 100%.

Главным же недостатком сухого озоления является не столько возможность больших потерь многих химических элементов, содержащихся в образце, сколько их непредсказуемость, а также практическое отсутствие возможности простого и качественного контроля этих потерь. Последнее объясняется многочисленностью и разнообразием факторов, влияющих на летучесть элементов при пиролизе биологических материалов.

Заключение

Выводы о полной неприемлемости сухого озоления для прецизионного количественного анализа некоторых химических элементов в биологических материалах делались и ранее (Tölg, 1972; Seiler, 1986). Полученные результаты, а также проведенный обзор данных литературы позволяет в полной мере распространить это заключение практически на все химические элементы. Настало время раз и навсегда отказаться от использования сухого озоления при анализе содержания химических элементов

в биологических образцах, а ранее полученные таким образом результаты подвергнуть тщательной ревизии.

Литература

- Лапин Л.Н. 1962. Открытие йода, основанное на превращении J в комплексные полигаллоидные ионы J₂Cl⁻ и J₂Br⁻, образующие солеобразные соединения с бриллиантовым зеленым // Научные труды Самаркандского медицинского института. Т.21. Самарканд. С.166–172.
- Тюхтенева С.Н. 1961. К вопросу об ускорении минерализации мочи при исследовании ее на содержание свинца // Гигиена и санитария. № 1. С.63–66.
- Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Егорова М.В., Мошлякова Л.А., Ларькина М.В. 1997. Оптимизация системы лабораторного контроля, гигиенического биомониторинга и ранней неинвазивной диагностики // Гигиена и санитария. № 6. С.45–49.
- Alexander G.V. 1962. Determination of zinc, copper, and iron in biological tissues – An X-ray fluorescent method // Anal. Chem. Vol.34. No.8. P.951–953.
- Amachi S., Muramatsu Y., Kamagata Y. 2000. Radioanalytical determination of biogenic volatile iodine emitted from aqueous environmental samples. // J. Radioanal. Nucl. Chem. Vol.246. No.2. P.337–341.
- Bagliano G., Chamard P., Clemente G.F. 1972. Experimental comparison between neutron activation analysis and oscillographic polarography with a double electrolytic cell in determining trace elements in aquatic plant samples // Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences (Bled, Yugoslavia, 10–14 April, 1972). Vienna: IAEA. P.139–154.
- Damsgaard E., Heydorn K., Rietz B. 1972. Determination of vanadium in biological materials by neutron activation analysis // Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences (Bled, Yugoslavia, 10–14 April, 1972). Vienna: IAEA. P.119–130.
- Fresenius R., von Babo L. 1844. Über ein neues, unter allen Umständen sicheres Verfahren zur Ausmittelung und quantitativen Bestimmung des Arsens bei Vergiftungsfällen // Ann. Chim. Pharm. Vol.49. P.287–313.
- Garlicka I., Doniec J. 1984. The lead recovery during dry ashing of lead containing bone samples // J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles. Vol.81. No.1. P.177–179.
- Gleit C.E., Holland W.D. 1962. Use of electrically excited oxygen for low temperature decomposition of organic substances // Anal. Chem. Vol.34. No.11. P.1454–1457.
- Gorsuch T.T. 1959. Radiochemical investigations on the recovery for analysis of trace elements in organic and biological materials // Analyst. Vol.84. P.135–173.
- Gorsuch T.T. 1970. The distribution of organic matter. Oxford: Pergamon Press.
- Gross S.B., Pfitzer E.A., Yeager D.W., Kehoe R.A. 1975. Lead in human tissues // Toxicol. Appl. Pharmacol. Vol.32. No.3. P.638–651.
- Hislop J.S., Williams D.K. 1972. The use of gamma activation to study the behaviour of certain metals, in particular lead, during the dry ashing of bone // Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences (Bled, Yugoslavia, 10–14 April, 1972). Vienna: IAEA. P.51–62.

- Iyengar G.V., Sansoni B. 1980. Sample preparation of biological materials for trace element analysis // *Elemental Analysis of Biological Materials: Current Problems and Techniques with Special Reference to Trace Elements*. Vienna: IAEA. P.73–101.
- Kello D., Kostial K., Harrison G.E. 1975. Influence of age and temperature of incineration on the loss of lead from rat bone // *Health Phys.* Vol.28. No.2. P.169–174.
- Koh S., Aoki T., Katayama Y., Takada J. 1999. Losses of elements in plant samples under the dry ashing process // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* Vol.239. No.3. P.591–594.
- Koirtyohann S.R., Hopkins C.A. 1976. Losses of trace metals during the ashing of biological materials // *Analyst.* Vol.101. No.1208. P.870–875.
- Kucera J., Soukal L. 1995. Cadmium losses on wet and dry ashing of plant materials // *J. Radioanal. Nucl. Chem., Articles.* Vol.193. No.1. P.33–38.
- Levstek M., Kosta L., Dermelj M., Byrne A.R. 1972. Vanadium determination in biological materials by the use of preconcentration // *Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences (Bled, Yugoslavia, 10–14 April, 1972)*. Vienna: IAEA. P.11–117.
- Petrow H.G., Cover A. 1965. Direct radiochemical determination of lead-210 in bone // *Anal. Chem.* Vol.35. No.13. P.1659–1660.
- Pietra R., Sabbioni E., Springer A., Ubertaini L. 1982. Analytical problems related to the preparation of samples used in studies on metallobiochemistry of heavy metals pollution using neutron activation analysis // *J. Radioanal. Chem.* Vol.69. No.1–2. P.365–379.
- Rouchand J.C., Deboire L., Fedoroff M., Mosulishvili L.M., Dundua V.Yu., Kharabadze N.E., Shonia N.I., Efremova E.Yu., Chikhladze N.V. 1986. A comparison of synthetic irradiation-resistant multielement standards for activation analysis // *Modern Trends in Activation Analysis - MTAA 7*. Roskilde: Risoe National Laboratory. Vol.1. P.643–648.
- Seiler H.G. 1986. Some problems encountered in the analysis of biological materials for toxic trace elements // H.Sigel (ed.) *Metal ions in biological system*. Vol. 20. New York: Marcel Dekker Inc. 386 p.
- Shi L., Zhou R., Wang G. 1998. Effects of cooking methods on iodine content in iodized salt // *Wei Sheng Yan Jiu.* Vol.27. N.6. P.412–414.
- Shiraishi K., Muramatsu Y., Los I.P., Korzun V.N., Tsigankov N.Y., Zamostyan P.V. 1999. Estimation of dietary iodine and bromine intakes of Ukrainians // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* Vol.242. No.1. P.199–202.
- Strohal P., Lulic S., Jelisavcic O. 1969. The loss of cerium, cobalt, manganese, protactinium, ruthenium and zinc during dry ashing of biological material // *Analyst.* Vol.94. No.1121. P.678–680.
- Tölg G. 1972. Extreme trace analysis of the elements. 1. Methods and problems of sample treatment, separation and enrichment // *Talanta.* Vol.19. P.1489–1521.
- Van Raaphorst J.G., Van Weers A.W., Haremaker H.M. 1974. Loss of zinc and cobalt during dry ashing of biological material // *Analyst.* Vol.99. No.1181. P.523–527.
- Van Raaphorst J.G., Van Weers A.W., Haremaker H.M. 1978. On the loss of cadmium, antimony and silver during dry ashing of biological materials // *Fresenius J. Anal. Chem.* Vol.293. No.5. P.401–403.
- Watling H.R., Wardale I.M. 1979. Comparison of wet and dry ashing for the analysis of biological materials by atomic absorption spectrometry // L.R.P. Butler (ed.) *The Analysis of Biological Materials*. Oxford: Pergamon Press. P.69–80.
- Xue Z.L., Wang Y.X. 1987. The loss of lead in biological materials following different drying and ashing procedures // *J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters.* Vol.119. No.6. P.425–431.
- Zaichick V.Ye. 1995. Application of synthetic reference materials in the Medical Radiological Research Centre // *Fresenius J. Anal. Chem.* Vol.352. P.219–223.