

**ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДУ ВИЗНАЧЕННЯ РІДКІСНОЗЕМЕЛЬНИХ
МЕТАЛІВ У БІОЛОГІЧНИХ ЗРАЗКАХ МЕТОДОМ АТОМНО-
ЕМІСІЙНОЇ ІНДУКТИВНО-ЗВ'ЯЗАНОЇ ПЛАЗМИ (ICP OES)**

О. М. ЧЕЧЕТ, кандидат ветеринарних наук,

<https://orcid.org/0000-0001-5099-5577>

С. В. ШУЛЯК, кандидат ветеринарних наук, старший дослідник,

<https://orcid.org/0000-0001-8501-1750>

А. В. МАСЛЮК, аспірант, <https://orcid.org/0000-0002-4161-8080>

М. Є. РОМАНЬКО, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник,

<https://orcid.org/0000-0003-0285-5603>

Ю. В. ДОБРОЖАН, кандидат ветеринарних наук,

<https://orcid.org/0000-0001-5072-7273>

З. В. МАЛІМОН, кандидат ветеринарних наук,

<https://orcid.org/0000-0002-8616-3198>

І. Ю. БАРДИК, провідний фахівець, <https://orcid.org/0000-0001-6376-6570>

О. В. СТУПАК, науковий співробітник,

<https://orcid.org/0000-0001-5391-3530>

*Державний науково-дослідний інститут лабораторної діагностики та
ветеринарно-санітарної експертизи*

E-mail: dia_sveta_@ukr.net

О. Л. ОРОБЧЕНКО, доктор ветеринарних наук, старший науковий

співробітник, <https://orcid.org/0000-0002-0885-7776>

E-mail: toxy-lab@ukr.net

В. О. УШКАЛОВ, доктор ветеринарних наук, професор,

<https://orcid.org/0000-0001-5694-632X>

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: ushkalov63@gmail.com

[https://doi.org/10.31548/dopovid2\(102\).2023.013](https://doi.org/10.31548/dopovid2(102).2023.013)

***Анотація.** Нині одними із пріоритетних наноматеріалів є наночастинки рідкісноземельних металів (РЗМ) – Церію, Лантану, Гадолінію та інших, що дозволяє успішно застосовувати їх в якості нових природних добавок до корму (завдяки антимікробним та антиоксидантним властивостям) з метою підвищення продуктивності тварин. Проте питання перерозподілу в організмі і накопичення РЗМ у продукції тваринництва потребує надання адекватної відповіді з використанням чутливих і високоточних кількісних методів дослідження у зв'язку із чим визначення РЗМ у біологічних зразках набуває надзвичайної актуальності. В рамках даного дослідження проведено оцінку придатності (валідацію) розробленої методики визначення РЗМ (Лантану і*

Чечет О. М., Шуляк С. В., Маслюк А. В., Романько М. Є., Доброжан Ю. В., Малімон З. В., Бардик І. Ю., Ступак О. В., Орбаченко О. Л., Ушкалов В. О.

Гадолінію) у біологічних зразках (сироватка, печінка, нирки) з використанням атомно-емісійної індуктивно-зв'язаної плазми (ICP OES) та адаптовано методику підготовки проб у різних матрицях. Як критерії оцінки визначали ключові робочі параметри: межу детектування, межу кількісного визначення, точність, правильність, збіжність, відтворюваність, селективність, лінійність, робочий діапазон. Установлено, що даний метод демонструє хорошу лінійність у робочому діапазоні 1,0-500,0 мкг/кг (дм³) для Гадолінію та 0,5-500,0 мкг/кг (дм³) для Лантану; метод є селективним, чутливим, практичним і точним. Межа детектування LOD та межа кількісного визначення LOQ становлять для Гадолінію і Лантану 0,1 та 0,05 мкг/кг (дм³) та 1,0 і 0,5 мкг/кг (дм³) відповідно. Одержані валідаційні дані задовольняють вимогам Настанови Eurachem та Гармонізованої настанови IUPAC з валідації в одній лабораторії, а методика визначення РЗМ у біологічних зразках є придатною для конкретного застосування відповідно до ISO/IEC 17025:2019.

Ключові слова: рідкісноземельні метали (РЗМ), Гадоліній, Лантан, атомно-емісійна індуктивно-зв'язана плазма (ICP OES), біологічні зразки, валідація

Актуальність. На сьогодні розвиток агропромислового комплексу неможливо уявити без застосування добрив, вітамінних добавок, преміксів, природних добавок до кормів, в тому числі синтезованих з використанням нанотехнологій. Повідомляється, що низка рідкоземельних металів (РЗМ) – Церій, Лантан, Гадоліній можуть успішно застосовуватися з метою підвищення продуктивності тварин і птиці. Окрім того, встановлена антимікробна та антиоксидантна дія РЗМ для тварин. У разі їх застосування у раціоні свиней виявляли позитивний вплив на коефіцієнт конверсії корму та показники росту. Застосування РЗМ мали позитивні результати для домашньої птиці. У дослідженнях додавання різних рівнів РЗМ сприяло значному збільшенню виробництва

яєць, їх ваги і швидкості запліднення інкубаційних яєць курей-несучок 6-місячного віку. Було встановлено що додавання різних рівнів РЗМ-нітрату до раціону курей-несучок значно поліпшило швидкість утворення яєць та їх масу [1-11].

Проте, застосування РЗМ потребує також і контролю їх залишкових кількостей в організмі сільськогосподарських тварин чи птиці, оскільки надлишок металів може призвести до розвитку патологічних процесів та дисбалансу між есенційними елементами, що викликає важкі порушення функцій організму, а також РЗМ можуть потрапляти і накопичуватися у продукції тваринництва, що може чинити небезпеку у разі споживання такої продукції людиною.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Нині в науковій

Чечет О. М., Шуляк С. В., Маслюк А. В., Романько М. Є., Доброжан Ю. В., Малімон З. В., Бардик І. Ю., Ступак О. В., Оробченко О. Л., Ушкалов В. О.

літературі описано багато методів якісного та кількісного визначення РЗМ. До них належать різні спектрометричні методи, наприклад, атомно-абсорбційна та емісійна спектроскопія (AAS та AES/OES), а також мас-спектрометрія (MS), які зазнали значних змін завдяки використанню індуктивно зв'язаної плазми (ICP-AES та ICP-MS). Крім того, існують хроматографічні методи (HPLC), нейтронно активаційний аналіз (NAA) [12-16], рентгенофлуоресцентний аналіз (X-rayFA) [17, 18] і полярографічні методи, які використовуються рідко [19, 20].

Найточнішим аналітичним методом визначення РЗМ у зразках біологічного походження (в т. ч. у тканинах тварин і людини) є ICP-MS, його успішно використовували у своїх працях Eisele N. (2003) Tautenhahn J. (2004) для визначення РЗМ в кормах для свиней і їх внутрішніх органах свиней [21] і риби [22]. Fujimori et al., 1999 було встановлено, що вміст РЗМ у крові ВРХ коливається від 0,90 пг/г для Тm до 1880,0 пг/г для Се [23]. Fleckenstein et al. (2004) використовували ICP-MS для визначення вмісту РЗМ у різних органах бройлерів (для екстракції матеріалу зразка було застосовано мікрохвильову екстракцію під тиском) і виявляли РЗМ у нирках, печінці та жирі на рівні 5,0-100,0 мг/кг [24].

У своїх дослідженнях Schwabe et

al., 2012 телятам німецької голштинської породи вводили РЗМ-цитрат, що містив Церій (57,9 %), Лантан (34,0 %) і Празеодим (6,5 %), 100,0; 200,0 та 300,0 мг/кг сухої речовини корму. У результаті концентрації усіх введених в раціон РЗМ у печінці, нирках і реберній кістці зазнавали значного лінійного підвищення зі збільшенням дози добавок цитрату РЗМ, тоді як концентрація РЗМ у м'язовій тканині залишалася незмінною. У печінці тварин вміст La становив 22,0–482,0 мкг/кг, Се – 37,0–719,0 мкг/кг і Рr 4,0–73,30 мкг/кг сухої речовини. М'язова тканина мала найнижчий вміст La, Се та Рr відповідно 3,0–5,0 мкг/кг, 5,0–7,0 мкг/кг та 0,5-0,7 мкг/кг сухої речовини відповідно [25].

Проте визначення РЗМ не можливе без правильної підготовки проб, а сучасні методи дають змогу мінімізувати вплив «заважаючих» речовин та фонових факторів з використанням новітніх методів розкладання біологічних зразків за допомогою мікрохвильової мінералізації закритого типу під тиском, що мінімізує втрати елементів, які є немінучими, як під час сухого озолення, так і кислотної мінералізації біологічних зразків.

Детальне вивчення токсикокінетики РЗМ надасть змогу регламентувати дози їх препаратів для вирощування тварин (птиці), що сприятиме запобіганню негативного

Чечет О. М., Шуляк С. В., Маслюк А. В., Романько М. Є., Доброжан Ю. В., Малімон З. В., Бардик І. Ю., Ступак О. В., Оробченко О. Л., Ушкалов В. О.

впливу цих речовин на організм та навколишнє середовище.

Мета дослідження – провести оцінку придатності (валідацію) методу з визначення рідкісноземельних металів у біологічних зразках за допомогою атомно-емісійної індуктивно-зв'язаної плазми (ICP OES).

Матеріали і методи досліджень. Дослідження були проведені у лабораторії атомно-абсорбційній спектрофотометрії науково-дослідного хіміко-токсикологічного відділу Державного науково-дослідного інституту лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи. Для визначення Гадолінію та Лантану використовували оптико-емісійний спектрометр (ICP-OES) PlasmaQuant PQ 9000 (Німеччина). Для підготовки зразків та приготування фонових, калібрувальних розчинів використовували ультрачисту нітратну кислоту (Merck, Німеччина), дослідні зразки наночастинок ортованадату гадолінію та лантану, активованих Європієм (NP $\text{GdVO}_4\text{:Eu}^{3+}$ і $\text{LaVO}_4\text{:Eu}^{3+}$), з вихідною концентрацією $1,0 \text{ г/дм}^3$ (зразки наночастинок синтезовано та стандартизовано відповідно стабільності та розміру у відділі наноструктурних матеріалів імені Ю. В. Малюкіна Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України) [26, 27]. Розчинником слугувала ультрачиста деіонізована

вода, приготована з використанням очисної системи Atrium 631 UV (Sartorius, Німеччина). Для мінералізації біологічних зразків використовували систему Milestone Ethnos Easy з автоклавами ротора високого тиску HPR-1000/10S (Milestone, Італія). Для дослідження відбирали проби сироватки крові ($1,0 \text{ см}^3$), печінки і нирок птиці ($0,5\text{--}0,6 \text{ г}$), отриманих з досліду із 10-добового введення курчатам-бройлерам наночастинок ортованадатів гадолінію і лантану відповідно до схеми введення: контрольна група курчат не отримувала добавок наночастинок, курчата І дослідної групи протягом 10 діб отримували з питною водою наночастинок ортованадату гадолінію активованого Європієм (NP $\text{GdVO}_4\text{:Eu}^{3+}$) у кількості $0,2 \text{ мг/дм}^3$ питної води, а курчата ІІ дослідної групи аналогічну кількість наночастинок ортованадату лантану активованого Європієм (NP $\text{LaVO}_4\text{:Eu}^{3+}$). Валідаційний процес визначення Гадолінію і Лантану у біологічних субстратах забезпечили дослідженням 60 зразків крові птиці, 40 зразків печінки та нирок.

Метод кількісного аналізу Гадолінію і Лантану валідували відповідно до вимог Настанови Eurachem «Придатність аналітичних методів для конкретного застосування. Настанова для лабораторій з валідації методів та суміжних питань» [28]. У ході

Чечет О. М., Шуляк С. В., Маслюк А. В., Романько М. Є., Доброжан Ю. В., Малімон З. В., Бардик І. Ю., Ступак О. В., Оробченко О. Л., Ушкалов В. О.

дослідження визначали ключові робочі параметри: межа кількісного визначення, межа детектування, збіжність, відтворюваність, точність, лінійність, специфічність, стабільність. Результати проведених робіт обробляли статистично з використанням програми дисперсійного аналізу (ANOVA) StatPlus 7.6.5.0 (AnalystSoft Inc., США). Вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Тьюкі (HSD різниці середніх) за рівня вірогідності 95,0 % ($p < 0,05$).

Результати та обговорення. Валідація методу є процес установлення аналітичних вимог та підтвердження того, що можливості даного методу відповідають поставленому завданню.

1. Результати визначення оптимальних довжин хвиль емісії для Гадолінію і Лантану ($M \pm m$, $n=6$)

Елементи \ Показники	Довжина хвилі емісії, нм	Значення інтенсивності сигналу, сигн/с
Гадоліній	417,204	44118,33 $\pm$ 290,34*
	294,364	46456,17 $\pm$ 740,38
	342,247	48193,50 $\pm$ 1054,75*
	287,424	45919,33 $\pm$ 1115,78
Лантан	423,828	68001,00 $\pm$ 627,67
	408,672	69729,17 $\pm$ 874,83
	379,478	72883,00 $\pm$ 643,69*
	333,749	69133,00 $\pm$ 687,08

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно значень показників за максимальної довжини хвилі

У результаті досліджень установлено, що оптимальною довжиною хвилі емісії для Гадолінію була 342,247 нм, а для Лантану – 379,478 нм, оскільки у разі їх застосування спостерігали максимальну інтенсивність сигналу

Невід'ємною частиною цього є оцінювання характеристик методу. Валідацію розробленого методу проводили для підтвердження того, що за своїми характеристиками метод придатний для конкретного застосування, згідно ISO/IEC 17025:2019 п. 7.2. про необхідність підтвердження того, що методи відповідають поставленому завданню [29, 30, 31].

На першому етапі роботи було підібрано довжини хвиль емісії для елементів та адаптовано методику підготовки проб у різних матрицях. Так, програмним забезпеченням приладу було запропоновано по 4 довжини хвиль для визначення РЗМ (табл. 1)

приладу, що перевищувало сигнал максимальної довжини хвилі на 5,0 і 5,4 % ($p < 0,05$) відповідно.

Для адаптації методики підготовки проб у різних матрицях на мінералізацію разків відбирали різний об'єм проб сироватки крові

Чечет О. М., Шуляк С. В., Маслюк А. В., Романько М. Є., Доброжан Ю. В., Малімон З. В., Бардик І. Ю., Ступак О. В., Оробченко О. Л., Ушкалов В. О.

1,0; 0,8 і 0,6 см³ та маси печінки і нирок 0,7; 0,6 і 0,5 г із однаковим вмістом РЗМ. До проби додавали 5,0 см³ концентрованої нітратної кислоти (HNO₃) та вносили в систему Milestone Ethnos Easy з автоклавами

ротора високого тиску HPR-1000/10S. За результатами досліджень були встановлені оптимальний об'єм сироватки крові та маса наважок печінки та нирок, що становили 0,8 см³; 0,6 і 0,5 г (табл. 2).

2. Результати визначення оптимальних об'єму/маси наважок для визначення вмісту Гадолінію та Лантану у біологічних зразках (M±m, n=6)

Біологічна матриця/об'єм (см ³), маса (г)		Інтенсивність сигналу приладу, сигн/с	
		Гадоліній	Лантан
Сироватка крові	1,0	43340,67±1100,58	68921,83±663,92
	0,8	43968,17±686,79	70205,00±688,01
	0,6	43079,50±897,82	69131,67±775,41
Печінка	0,7	43193,83±868,92	69672,33±831,44
	0,6	44901,33±372,75*	70672,33±540,11
	0,5	42586,17±484,71	68286,33±919,97*
Нирки	0,7	43400,17±435,07	69215,83±290,90
	0,6	43563,00±271,68	69534,83±244,64
	0,5	43736,33±603,53	69647,50±354,96

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно значень показників за максимального об'єму/наважки

Оскільки за вищевказаних значень наважок отримували максимальні значення інтенсивності сигналу приладу, причому для печінки за наважки 0,6 г у разі визначення вмісту Гадолінію інтенсивність сигналу приладу була на 5,4 % вищою ($p < 0,05$) ніж за 0,7 г відповідно.

Установлені оптимальні умови роботи ІСР (ІІІ режим): швидкість потоку газу небулайзера (Аргону) 0,6 дм³/хв., витрата газу плазми 14,0 дм³/хв, час затримки – 80,0 с, швидкість подачі зразку – 1,0 см³/хв, потужність – 13000,0 Вт (табл. 3). Проте слід зазначити, що вірогідних змін не відмічали за умов І-ІІІ

режимів, тоді як за ІV режиму значення обох елементів були нижчими ($p < 0,05$) за І режим на 4,8 та 2,3 % відповідно.

Дослідженнями специфічності методики встановлювали наскільки вона забезпечує недвозначне виявлення та визначення певного аналіту в суміші без взаємного впливу з боку інших компонентів, які можуть очікуватись в матриці (домішки, близько рівні хімічні сполуки, продукти розпаду, інгредієнти плацебо). У результаті досліджень як Гадолінію так і Лантану не фіксували випадків серйозного взаємного впливу.

3. Результати визначення оптимальних умови роботи ICP ($M \pm m$, $n=6$)

Умови роботи			Інтенсивність сигналу приладу, сигн/с	
			Гадоліній	Лантан
I	Швидкість потоку газу небулайзера, $\text{дм}^3/\text{хв}$	0,8	43373,83 $\pm 417,82$	69592,00 $\pm 414,29$
	Витрата газу плазми, $\text{дм}^3/\text{хв}$	16,0		
	Час затримки, с	100,0		
	Швидкість подачі зразку, $\text{см}^3/\text{хв}$	1,4		
	Потужність, Вт	15000,0		
II	Швидкість потоку газу небулайзера, $\text{дм}^3/\text{хв}$	0,7	43474,83 $\pm 388,23$	69935,67 $\pm 618,94$
	Витрата газу плазми, $\text{дм}^3/\text{хв}$	15,0		
	Час затримки, с	90,0		
	Швидкість подачі зразку, $\text{см}^3/\text{хв}$	1,2		
	Потужність, Вт	14000,0		
III	Швидкість потоку газу небулайзера, $\text{дм}^3/\text{хв}$	0,6	43468,67 $\pm 358,89$	70319,00 $\pm 582,23$
	Витрата газу плазми, $\text{дм}^3/\text{хв}$	14,0		
	Час затримки, с	80,0		
	Швидкість подачі зразку, $\text{см}^3/\text{хв}$	1,0		
	Потужність, Вт	13000,0		
IV	Швидкість потоку газу небулайзера, $\text{дм}^3/\text{хв}$	0,5	41303,67 $\pm 469,345^*$	68025,33 $\pm 498,37^*$
	Витрата газу плазми, $\text{дм}^3/\text{хв}$	13,0		
	Час затримки, с	70,0		
	Швидкість подачі зразку, $\text{см}^3/\text{хв}$	0,8		
	Потужність, Вт	12000,0		

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно значень показників за максимального об'єму/наважки

Робочий діапазон або інтервал – оцінювали перевіркою того, як даний аналітичний метод забезпечує точність, правильність і лінійність при визначенні зразків, які вміщують аналіт на межі інтервалу і всередині його. Визначали як ту область, де результати мають прийнятну невизначеність. Нижня межа робочого діапазону визначається лімітом кількісного визначення, а верхня – точкою, де рівень зміни реакції на одиницю зміни концентрації є недостатнім. Так, робочим діапазоном для Гадолінію

визначено 1,0-500,0 мкг/кг (л), а для Лантану – 0,5-500,0 мкг/кг (л) відповідно.

Лінійність та робочий діапазон дають змогу більш точно оцінювати отримані результати. Лінійність це – здатність показати, що результати тесту є пропорційні концентрації аналіту в зразку в межах даного інтервалу, встановленого для методу. Нахил регресійної лінії і його варіація дає математичну ступінь лінійності. Лінійність оцінювали шляхом візуальної перевірки графіків 6-ти вимірювальних калібрувальних

Чечет О. М., Шуляк С. В., Маслюк А. В., Романько М. Є., Доброжан Ю. В., Малімон З. В., Бардик І. Ю.,
Ступак О. В., Оробченко О. Л., Ушкалов В. О.

зразків Гадолінію і Лантану,
опрацьованих програмним
забезпеченням приладу, що зазначено
відповідно на рисунках 1 і 2.

Методика визначення була лінійною в
межах 0-30,0 мкг/дм³ для обох
елементів.

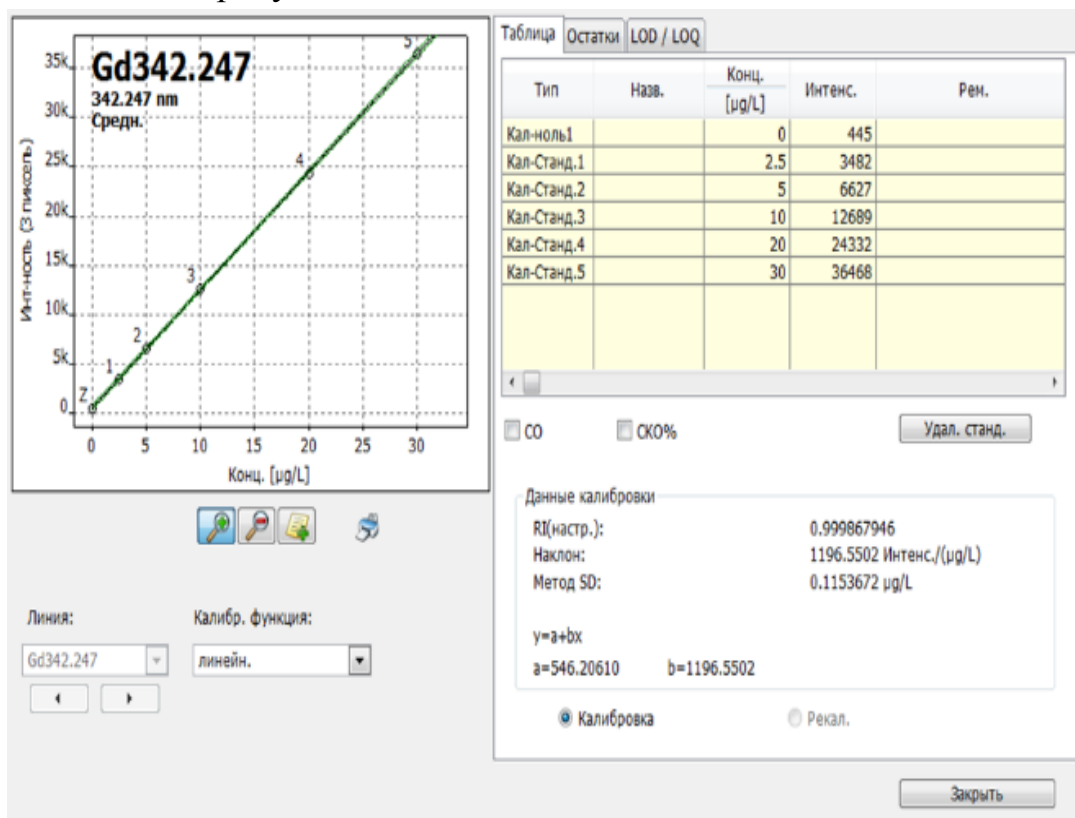


Рис.1. Визначення лінійності на оптимальній хвилі емісії для Гадолінію

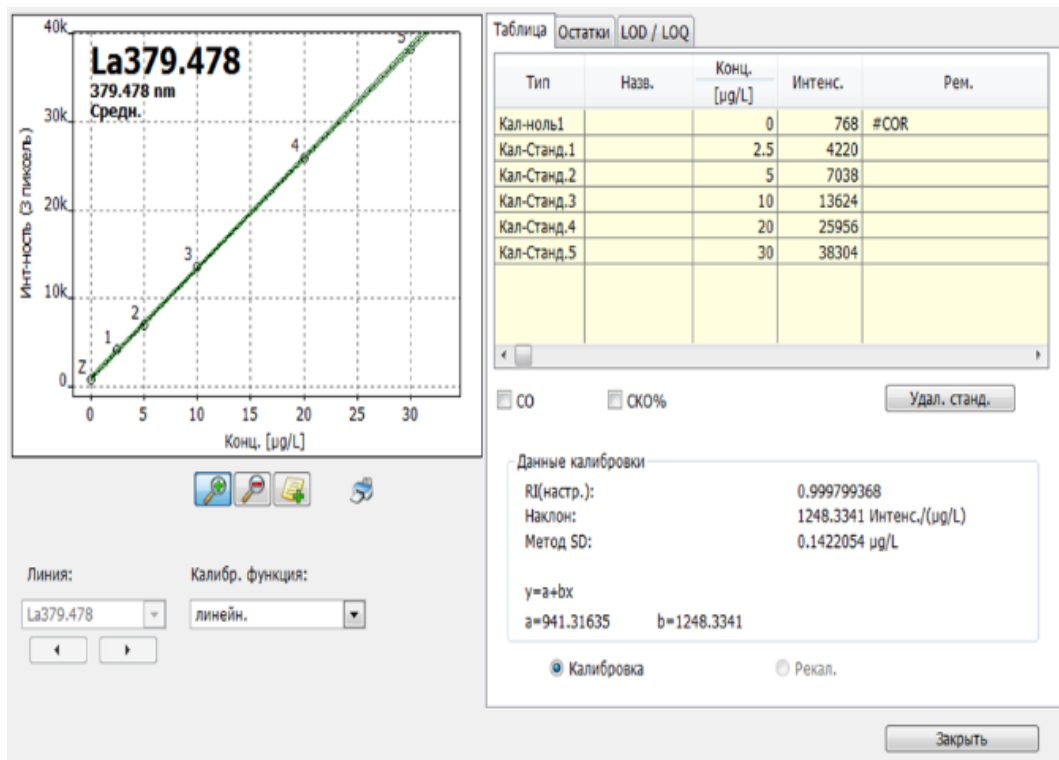


Рис. 2. Визначення лінійності на оптимальній хвилі емісії для Лантану

Чечет О. М., Шуляк С. В., Маслюк А. В., Романько М. Є., Доброжан Ю. В., Малімон З. В., Бардик І. Ю., Ступак О. В., Оробченко О. Л., Ушкалов В. О.

Точність і правильність визначали за допомогою проби з добавкою, оскільки вона характеризує близькість отриманих результатів до істинного значення і оцінювали за похибкою визначення. Мінімальна точність кількісного

методу, згідно Директиви Ради 96/23 ЄС щодо застосування аналітичних методів та роз'яснення результатів 2004/657/ЄС наведена в таблиці 4. Як видно із наведених даних точність методу цілком відповідає нормативним вимогам (табл. 4).

Таблиця 4. Установлення точності і правильності методики визначення Гадолінію і Лантану з використанням ICP OES

Назва компонента	Концентрація аналіту	Регламентоване значення точності, %	Фактичне значення точності, %
Гадоліній	≤ 1 мкг/кг	$100\% \pm 20\%$	96,0
Гадоліній	>1 мкг/кг до 10 мкг/кг	$100\% \pm 10\%$	97,2
Гадоліній	≥ 10 мкг/кг	$100\% \pm 10\%$	98,1
Лантан	≤ 1 мкг/кг	$100\% \pm 20\%$	96,1
Лантан	>1 мкг/кг до 10 мкг/кг	$100\% \pm 10\%$	97,4
Лантан	≥ 10 мкг/кг	$100\% \pm 10\%$	98,5

Відтворюваність визначали багаторазовим дослідженням зразків в різних умовах, оскільки це характеристика якості результатів вимірювань, яка відображає близькість один до одного результатів повторних спостережень в умовах. Недостатня стабільність досліджуваної речовини або матричних елементів у зразку

протягом збереження або аналізу, може викликати істотні відхилення в результатах аналізу. Слід зазначити, що для обох РЗМ фактична внутрішньо-лабораторна відтворюваність знаходилася в межах відповідних нормативних показників. Результати досліджень наведені в таблиці 5.

5. Відтворюваність методики визначення Гадолінію і Лантану з використанням ICP OES

Назва компонента	Масова частка, мкг/л	Нормативна внутрішньо-лабораторна відтворюваність, %	Фактична внутрішньо-лабораторна відтворюваність, %
Гадоліній	$>0,01-0,1$	20	13,2
Гадоліній	$>0,10-1,0$	15	9,10
Гадоліній	$>1,0$	10	4,80
Лантан	$>0,01-0,1$	20	11,0
Лантан	$>0,10-1,0$	15	7,80
Лантан	$>1,0$	10	5,02

Чечет О. М., Шуляк С. В., Маслюк А. В., Романько М. Є., Доброжан Ю. В., Малімон З. В., Бардик І. Ю., Ступак О. В., Оробченко О. Л., Ушкалов В. О.

Збіжність (повторюваність) – показник короткотривалих коливань результатів досліджень, критерієм цього показнику є стандартне відхилення паралельних величин. При вмісті аналітів у зразку в межах $>0,01-0,1$ мкг/кг(дм³) прийнятне

значення RSD не повинно перевищувати 20 %, тобто результати визначення збіжності методики визначення Гадолінію і Лантану з використанням ICP OES задовольняють нормативні (табл. 6).

6. Збіжність (повторюваність) методики визначення Гадолінію і Лантану з використанням ICP OES

Назва компонента	Масова частка, мкг/л	Нормативні показники збіжності (повторюваності), %	Фактичні показники збіжності (повторюваності), %
Гадоліній	$>0,01-0,1$	20	4,2
Гадоліній	$>0,10-1,0$	15	3,5
Гадоліній	$>1,0$	10	1,4
Лантан	$>0,01-0,1$	20	4,1
Лантан	$>0,10-1,0$	15	3,2
Лантан	$>1,0$	10	2,2

Межа детектування LOD (Limit of Detection) або межа виявлення аналітичного методу – статистично визначається, як деякий множник, рівний подвоєному (двосигмовий критерій) або потроєному (трьохсигмовий критерій) стандартному відхиленню. Дана кількість чисельно дорівнює подвоєній величині стандартного відхилення $2S_0$. У результаті досліджень встановлено, що для Гадолінію і Лантану LOD становить 0,1 та 0,05 мкг/кг (дм³) відповідно.

Для оцінювання межі кількісного визначення LOQ (Limit of Quantitation) (найнижчий рівень вмісту аналіту в матричній пробі) проводили 10-кратне аналізування тест-проб з низькою концентрацією аналіту. Показник LOQ обчислювали

як концентрацію аналіту, що дорівнює отриманому стандартному відхилу (s_0') на низьких рівнях концентрації, помноженому на коефіцієнт k . У Рекомендаціях IUPAC прийнято значення за умовчанням $k = 10$, і якщо стандартний відхил є приблизно постійний на низьких концентраціях, цей множник відповідає відносному стандартному відхилу (RSD), що дорівнює 10 %. Тому важливим критерієм є значення межі кількісного визначення методу для вірної інтерпретації і достовірності результатів аналізу. У результаті досліджень встановлено, що для Гадолінію і Лантану показник LOQ становить 1,0 та 0,5 мкг/кг (дм³) відповідно.

Висновки На основі експериментальних даних

Чечет О. М., Шуляк С. В., Маслюк А. В., Романько М. С., Доброжан Ю. В., Малімон З. В., Бардик І. Ю., Ступак О. В., Оробченко О. Л., Ушкалов В. О.

встановлено, що методика визначення Гадолінію і Лантану є чутливою та селективною. Багатоелементний метод аналізу характеризується низькими межами виявлення та широким діапазоном детекції. При оцінці придатності методу встановлено параметри детектування та визначено валідаційні характеристики. Одержані валідаційні дані задовольняють вимоги Настанови Eurachem та Гармонізованої настанови IUPAC з валідації в одній лабораторії. Метод ICP OES

визначення РЗМ у біосубстратах є простим у використанні, із застосуванням швидкого та ефективного методу підготовки проб, дає змогу визначати РЗМ в широкому діапазоні. Це дозволяє застосувати метод ICP OES за призначенням та отримувати дані високої точності.

Перспективи досліджень.

Провести дослідження токсикокінетики Гадолінію і Лантану в організмі курчат-бройлерів за умов застосування кормових добавок відповідних РЗМ.

36-8.

References

1. Wang, M. Q., & Xu, Z. R. (2003). Effect of supplemental lanthanum on the growth performance of pigs. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 16, 1360–1363. <https://doi.org/10.5713/ajas.2003.1360>
2. Cai, L., Nyachoti, C. M., & Kim, I. H. (2018). Impact of rare earth element-enriched yeast on growth performance, nutrient digestibility, blood profile, and fecal microflora in finishing pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, 98(2), 347–353. <https://doi.org/10.1139/cjas-2017-0089>
3. Cai, L., Park, Y. S., Seong, S. I., Yoo, S. W., & Kim, I. H. (2015). Effects of rare earth elements-enriched yeast on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, relative organ weight, and excreta microflora in broiler chickens. *Livestock Science*, 172, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2014.11.013>
4. Tariq, H., Sharma, A., Sarkar, S., Ojha, L., Pal R.P., & Mani, V. (2020). Perspectives for rare earth elements as feed additive in livestock — A review. *Asian-Australas J. Anim. Sci.*, 33(3), 373–381. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0242>
5. Wu, J., Zhang, Z., & Yan, J. (1994). An initial study on effect of adding rare earth element on productivity of egg laying breeder hens. *Ning. Xia Sci. Technol. Farming For.*, 4, визначення РЗМ у біосубстратах є простим у використанні, із застосуванням швидкого та ефективного методу підготовки проб, дає змогу визначати РЗМ в широкому діапазоні. Це дозволяє застосувати метод ICP OES за призначенням та отримувати дані високої точності.
6. Fang, J., Huang, Y., & Gong, H. (1994). A study of feeding rare earth elements to black-bone silky fowl. *Fujian J. Husb. Vet.*, 3, 28–9.
7. Durmuş, O., & Bölükbaşı, Ş. C. (2015). Biological activities of lanthanum oxide in laying hens. *The Journal of Applied Poultry Research*, pfv052. <https://doi.org/10.3382/japr/pfv052>
8. Reka, D., Thavasiappan, V., Selvaraj, P., Arivuchelvan, A. & Visha, P. (2019). Influence of rare earth elements on production performance in post peak layer chickens *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 7(2), 292-295.
9. Liu, Q., Wang, C., Huang, Y. X., Dong, K. H., Yang, W. Z., & Wang, H. (2008). Effects of lanthanum on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and digestibility in steers. *Animal Feed Science and Technology*, 142(1-2), 121–132. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.08.002>
10. Renner, L., Schwabe, A., Döll, S., Höltershinken, M., & Dänicke, S. (2011). Effect of rare earth elements on beef cattle growth performance, blood clinical chemical parameters and mitogen stimulated proliferation of bovine peripheral blood mononuclear cells in vitro and ex vivo. *Toxicology Letters*, 201(3), 277–284.

Чечет О. М., Шуляк С. В., Маслюк А. В., Романько М. С., Доброжан Ю. В., Малімон З. В., Бардик І. Ю.,
Ступак О. В., Оробченко О. Л., Ушкалов В. О.

<https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.01.014>

11. Xun, W., Shi, L., Hou, G., Zhou, H., Yue, W., Zhang, C., & Ren, Y. (2014). Effect of Rare Earth Elements on Feed Digestibility, Rumen Fermentation, and Purine Derivatives in Sheep. *Italian Journal of Animal Science*, 13(2), 3205.

<https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3205>

12. Zawisza, B., Pytlakowska, K., Feist, B., Polowniak, M., Kita, A., & Sitko, R. (2011). Determination of rare earth elements by spectroscopic techniques: a review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 26(12), 2373. <https://doi.org/10.1039/c1ja10140d>

13. He, M., Hu, B., Chen, B., & Jiang, Z. (2017). Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry for Rare Earth Elements Analysis. *Physical Sciences Reviews*, 2(1). <https://doi.org/10.1515/psr-2016-0059>

14. Chen, B., He, M., Zhang, H., Jiang, Z., & Hu, B. (2017). Chromatographic Techniques for Rare Earth Elements Analysis. *Physical Sciences Reviews*, 2(4). <https://doi.org/10.1515/psr-2016-0057>

15. Dybczyński, R. S., & Kulisa, K. (2021). Separation of Rare Earth Elements (REE) by Ion Interaction Chromatography (IIC) Using Diglycolic Acid (ODA) as a Complexing Agent. *Chromatographia*, 84, 473–482. <https://doi.org/10.1007/s10337-021-04025-y>

16. Stosch, H.-G. (2016). Neutron Activation Analysis of the Rare Earth Elements (REE) – With Emphasis on Geological Materials. *Physical Sciences Reviews*, 1(8). <https://doi.org/10.1515/psr-2016-0062>

17. De Vito, I. (1999). Determination of trace rare earth elements by X-ray fluorescence spectrometry after preconcentration on a new chelating resin loaded with thorin. *Talanta*, 49(4), 929–935. [https://doi.org/10.1016/s0039-9140\(99\)00089-2](https://doi.org/10.1016/s0039-9140(99)00089-2)

18. Nakayama, K., & Nakamura, T. (2005). X-ray Fluorescence Analysis of Rare Earth Elements in Rocks Using Low Dilution Glass Beads. *Analytical Sciences*, 21(7), 815–822. <https://doi.org/10.2116/analsci.21.815>

19. Dubenskaya, L. O., Levitskaya, G. D., & Poperechnaya, N. P. (2005). Use of organic reagents for the voltammetric determination of rare-earth elements. *Journal of Analytical Chemistry*, 60(4), 304–309.

<https://doi.org/10.1007/s10809-005-0089-7>

20. Janos, P. & Sulcek, Z. (1990). Methods of determination of rare earth elements. *Chemicke Listy*, 84(3), 264–280.

21. Eisele, N. (2003). Untersuchungen zum Einsatz Seltener Erden als Leistungsförderer beim Schwein. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, München, 179. <https://doi.org/10.5282/edoc.1509>

22. Tautenhahn, J. (2004). Effect of different concentrations of Rare Earth Elements on growth of juvenile oreochromis niloticus. Bachelor's thesis, University of Aquaculture University of Stirling, Scotland, 60.

23. Fujimori, E., Hayashi, T., Inagaki, K., & Haraguchi, H. (1999). Determination of lanthanum and rare earth elements in bovine whole blood reference material by ICP-MS after coprecipitation preconcentration with heme-iron as coprecipitant. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 363(3), 277–282. <https://doi.org/10.1007/s002160051188>

24. Fleckenstein, J., Halle, I., Hu, Z. Y., Flachowsky, G., & Schnug, E. (2004). Analyse von Lanthaniden mittels ICP-MS in Futter- und Organproben im Broilermastversuch. Arbeitstagung Mengen und Spurenelemente 24–25.09.2004, Jena, Germany, 22, 981–986.

25. Schwabe, A., Meyer, U., Grün, M., Voigt, K. D., Flachowsky, G., & Dänicke, S. (2012). Effect of rare earth elements (REE) supplementation to diets on the carry-over into different organs and tissues of fattening bulls. *Livestock Science*, 143(1), 5–14. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.08.010>

26. Klochkov, V. K., Malyshenko, A. I., Sedykh, O. O., & Malyukin, Y. V. (2011). Wet chemical synthesis and characterization of luminescent colloidal nanoparticles: ReVO₄ : Eu³⁺ (Re = La, Gd, Y) with rodlike and spindle-like shape. *Functional materials*, 18(1), 111–115. <http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/135437>

27. Klochkov, V. K., Grigorova, A. V., Sedykh, O. O., & Malyukin, Yu. V. (2012). Characteristics of nLnVO₄ : Eu³⁺ (Ln = La, Gd, Y, Sm) sols with nanoparticles of different shapes and sizes. *J. Appl. Spectrosc.* 79(5), 726–730. <https://doi.org/10.1007/s10812-012-9662-7>

28. Eurachem Guide: The Fitness for

Чечет О. М., Шуляк С. В., Маслюк А. В., Романько М. Є., Доброжан Ю. В., Малімон З. В., Бардик І. Ю., Ступак О. В., Оробченко О. Л., Ушкалов В. О.

Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics: B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) : translation of the second edition, 2014. Kyiv : LLC «Yurka Liubchenka», 2016. 92.

29. DSTU EN ISO/IEC 17025:2019 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (EN ISO/IEC 17025:2017, IDT; ISO/IEC 17025:2017, IDT). Input 2021-01-01. Kyiv : SE

"UkrNDNC", 2020, 24.

30. Rao, T. N. (2018). Validation of Analytical Methods. Calibration and Validation of Analytical Methods – A Sampling of Current Approaches. Doi.:10.5772/intechopen.72087

31. Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens (2009). UNITED NATIONS. New York, 70.

VALIDATION OF THE METHOD FOR THE DETERMINATION OF RARE EARTH METALS IN BIOLOGICAL SAMPLES BY THE ATOMIC EMISSION INDUCTIVELY COUPLED PLASMA METHOD (ICP OES)

O. Chechet, S. Shulyak, A. Maslyuk, M. Romanko, Yu. Dobrozhanyan, Z. Malimon, I. Bardik, O. Stupak, O. Orobchenko, V. Ushkalov

Abstract. Currently, one of the priority nanomaterials are nanoparticles of rare earth metals (REM) – cerium, lanthanum, gadolinium and others, which allows them to be successfully used as new natural feed additives (due to their antimicrobial and antioxidant properties) in order to increase the productivity of animals. However, the issue of redistribution in the body and accumulation of REMs in livestock products requires an adequate answer using sensitive and highly accurate quantitative research methods, in connection with which the determination of REMs in biological samples becomes extremely relevant. Within the framework of this study, the suitability assessment (validation) of the developed method for the determination of REM (lanthanum and gadolinium) in biological samples (serum, liver, kidneys) using atomic emission inductively coupled plasma (ICP OES) was carried out and the method of sample preparation in various matrices was adapted. Key working parameters were determined as evaluation criteria: limit of detection, limit of quantification, accuracy, correctness, convergence, reproducibility, selectivity, linearity, working range. It was established that this method demonstrates good linearity in the working range of 1.0-500.0 $\mu\text{g/kg}(\text{dm}^3)$ for Gadolinium and 0.5-500.0 $\mu\text{g/kg}(\text{dm}^3)$ for Lanthanum; the method is selective, sensitive, practical and accurate. The limit of detection LOD and limit of quantification LOQ for Gadolinium and Lanthanum are 0.1 and 0.05 $\mu\text{g/kg}(\text{dm}^3)$ and 1.0 and 0.5 $\mu\text{g/kg}(\text{dm}^3)$, respectively. The validation data obtained meet the requirements of the Eurachem Guideline and the IUPAC Harmonized Guideline for Single-Laboratory Validation, and the method for the determination of REMs in biological samples is suitable for a specific application according to ISO/IEC 17025:2019.

Key words: rare earth metals (REM), gadolinium, lanthanum, atomic emission inductively coupled plasma (ICP OES), biological samples, validation