

DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-2-93-97
УДК 615.4; 543.641; 543.054

Особенности экспресс-определения микроэлементов в лекарственных и неофициальных растениях

М. П. Макарова^{1*}, А. В. Сыроешкин¹, Т. В. Максимова¹, И. С. Матвеева², Т. В. Плетенёва¹

1 – ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов» (ФГАУ ВО РУДН), Медицинский институт, кафедра фармацевтической и токсикологической химии, 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

2 – ФГБУ «Государственный океанографический институт имени Н.Н. Зубова» (ФГБУ «ГОИН»), Росгидромет, 119034, Россия, г. Москва, Кропоткинский пер., д. 6

*Контактное лицо: Макарова Мария Павловна. E-mail: tabulett6@gmail.com

Статья получена: 25.03.2019. Статья принята к печати: 15.04.2019

Резюме

Введение. Химический состав растений зависит от элементного состава среды обитания, а также отражает видовые и индивидуальные особенности растения. Перед использованием любого растения в лечебных целях, необходимо также собрать как можно более полную информацию об элементном составе исходного сырья.

Цель. Следовательно, возникла возможность создания методики экспресс-определения микроэлементов в растениях методом рентгено-флуоресцентной спектроскопии.

Материалы и методы. В соответствии с положением международной интеркалибрации в системе МАГАТЭ (IAEA-433) для обеспечения внешнего контроля качества (QA/QC) лабораторного элементного анализа использовали международный стандартный образец NIST SRM 2976, аттестованный Национальным институтом стандартов и технологий (США). Для цинка проведено сличение результатов анализа растительного сырья методами РФА (экспресс-анализ) и ААС с электротермической атомизацией и зеэмановской коррекцией фона после микроволновой кислотной минерализации биоматериала. Для обеспечения воспроизводимости результатов РФА критически необходимо мягкое высушивание и диспергирование растительного сырья.

Результаты их обсуждения. Представлены результаты рентгено-флуоресцентного анализа (РФА) элементного состава плодов (*fructus Anethi graveolentis* L.), семян (*semina Cucurbitae pepo* L., *semina Menthae arvensis* L., *semina Cucumis sativa* L., *semina Kalanchoës daigremontianae*) и листьев (*folia Callisiae fragrantis* L.) лекарственных и неофициальных растений. Разработанные методики РФА и ААС анализа применены для контроля технологии обогащения листьев каллизии душистой соединениями цинка при различном изотопном составе водных растворов.

Заключение. Показана возможность создания металл-модифицированных растений с содержанием цинка 1,4 мг/г сухой массы.

Ключевые слова: рентгено-флуоресцентный анализ; эссенциальные микроэлементы; цинк; референс-образец; обеднённая по дейтерию вода; лекарственные растения.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Источник финансирования: публикация подготовлена при поддержке Программы РУДН «5-100».

Для цитирования: Макарова М. П., Сыроешкин А. В., Максимова Т. В., Матвеева И. С., Плетенёва Т. В. Особенности экспресс-определения микроэлементов в лекарственных и неофициальных растениях. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2019; 8(2): 93–97.

Features of Microelements Express-determination in Medicinal and Nonofficial Plants by X-Ray-Fluorescence Analysis

М. П. Makarova^{1*}, А. V. Syroeshkin¹, Т. V. Maksimova¹, I. S. Matveeva², Т. V. Pleteneva¹

1 – Peoples Friendship University of Russia (RUDN University), 6, Mikluho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia

2 – N.N. Zubov State Oceanographic Institute (SOI), Roshydromet, 6, Kropotkiy Lane, Moscow, 119034, Russia

*Corresponding author: Maria P. Makarova. E-mail: tabulett6@gmail.com

Received: 25.03.2019. Accepted: 15.04.2019

Abstract

Introduction. The chemical composition of plants depends on the elemental composition of the habitat, and also reflects the species and individual characteristics of the plant. Before using any plant for medicinal purposes, it is also necessary to collect as much information as possible about the elemental composition of the feedstock.

Aim. Consequently, it became possible to create a method for the rapid determination of trace elements in plants using the X-Ray fluorescent method.

Materials and methods. In accordance with the international intercalibration standard in the IAEA system (IAEA-433), an international standard sample NIST SRM 2976, certified by the National Institute of Standards and Technology (USA), was used to provide external quality control (QA/QC) of laboratory elemental analysis. For Zn the results of plant raw powder materials analysis by XRF (express analysis) were compared with AAS by electrothermal atomization and Zeeman background correction after microwave acid mineralization of biomaterials. To ensure the reproducibility of the results of XRF-express analysis, it is absolutely necessary to carry out mild drying and dispersion of the plant material.

Results and discussion. The results of X-ray fluorescence (XRF) analysis of the elemental composition of the fruits (*fructus Anethi graveolens* L.), the seeds (*semina Cucurbitae pepo* L., *semina Menthae arvensis* L., *semina Cucumis sativa* L., *semina Kalanchoës daigremontianae*) and leaves (*folia Callisiae fragrantis* L.) of medicinal and nonofficial plants are presented in the article. The methods of XRF and AAS analysis have been developed for the technology of essential microelements enrichment in of *Callisiae fragrantis* control leaves at different ratios of hydrogen isotopologues (D/H) in the water.

Conclusion. For example, zinc(II) has demonstrated the ability to create modified plants with high content of essential microelement, up to 1.4 mg /g dry weight.

Keywords: X-ray fluorescence analysis, essential microelements, zinc, reference sample, deuterium-depleted water, medicinal plants.

Conflict of interest: no conflict of interest.

Source of funding: publication prepared with the support of the PFUR «5-100» Program.

For citation: Makarova M. P., Syroeshkin A. V., Maksimova T. V., Matveeva I. S., Pleteneva T. V. Features of microelements express-determination in medicinal and nonofficial plants by X-ray-fluorescence analysis. *Drug development & registration.* 2019; 8(2): 93–97.

ВВЕДЕНИЕ

Биогеохимический профиль растительной биомассы является, как известно, видовым признаком [1]. Элементный профиль зависит от условий произрастания, условий культивирования растений. Существование взаимно-однозначных соответствий «вид – элементный профиль» позволяет использовать контроль элементного состава лекарственных и нефармакопейных растений для определения подлинности растительного сырья. Кроме того, контроль элементного состава растений позволяет оценить экологическую безопасность ареала произрастания дикорастущего растения и контролировать технологию выращивания культивируемых видов.

Координационные соединения с ионами микроэлементов в качестве центрального атома, содержащиеся в растениях, могут играть роль терапевтических и профилактических средств. Аккумуляция ряда эссенциальных микроэлементов в растении может рассматриваться как проявление его видоспецифичности, но их распределение в растении происходит неравномерно. В связи с этим, а также с учетом сложной структуры растительной матрицы в каждом конкретном случае требуется индивидуальный подход к выбору пробы для анализа, ее предварительной подготовки и обязательного использования идентичного референс-образца с заданным количеством микроэлементов [2]. Точность (правильность и прецизионность) анализа методом рентгено-флуоресцентной спектроскопии зависит в первую очередь от специфики пробоподготовки и использования референс-образца. Рентгено-флуоресцентный анализ (РФА) успешно применяется для определения элементного профиля сплавов металлов и порошков неорганических соединений. Использование метода в элементном анализе органических объектов, в том числе растительных материалов, требует специальной предварительной пробоподготовки. Она включает низкотемпературную («мягкую») сушку и гомогенизацию пробы. РФА может найти применение при внедрении в фармацевтическую практику нового технологического процесса – обогащения растения необходимыми микроэлементами в специальных условиях. В статье рассматриваются возможности и условия использования РФА в контроле насыщения растения цинком из водных растворов глицината цинка при соотношения изотопологов водорода [D]/[H] ниже природного (<140 ppm).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для построения калибровочных прямых использовали цинка сульфат гептагидрат ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) > 99,5%, Ph. Eur. grade (Sigma-Aldrich, США). Материалы матриц, прозрачные для рентгеновских лучей: лактоза моногидрат (ХИММЕД, Россия; Lot № 8507102612); борная кислота х.ч. (ООО «Реактив», Россия), бычий сывороточный альбумин (BCA) ≥96% (Sigma-Aldrich, США,

каталожный номер A6003), глицин ACS reagent, ≥98,5% (Sigma-Aldrich, США, каталожный номер 410225).

Различные навески соли $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ смешивали с материалом «подложки» – лактозы, борной кислоты, бычьего сывороточного альбумина (около 1,0 г), смесь гомогенизировали в механической мельнице. Используя ситовой анализ, отбирали фракцию с размером частиц от 37 до 63 мкм ($D_{cp} = 47 \pm 6$ мкм) по данным лазерного малоуглового измерителя дисперсности [3].

Лекарственное и неофициальное растительное сырьё: укропа пахучего плоды (*Anethi graveolentis fructus*), цельные (ООО «ГАВРИШ», Россия); тыквы семена (*Cucurbitae pepo semina*), цельные и очищенные (ООО «ГАВРИШ», Россия); огурца посевного семена (*Cucumis sativa semina*), цельные; мяты полевой семена (*Menthae arvensis semina*), цельные («Sanrival» и «Sèmelavie», Франция); каланхоэ Дагремона семена (*Kalanchoës daigremontianae semina*), свежие и высушенные; каллизии душистой листья (*Callisiae fragrantis folia*), свежие и высушенные.

Выбор каллизии душистой в качестве модельного объекта, аккумулирующего микроэлементы, не случаен, так как это растение детально охарактеризовано с позиций фитохимии и фармакогнозии. Доказаны её антигипоксическая активность, стресспротективные и иммуномодулирующие свойства, а также возможность применения при некоторых дерматозах. Растение удобно в эксперименте, поскольку не требует особых условий выращивания.

Растворы глицината цинка [бис(глициinato-N,O)цинк] (20 мМ глицин и 1 мМ $ZnSO_4$, pH=6,8) готовили на водах с различным содержанием дейтерия: деионизированная высокоомная вода (18 МОм × см при 25 °С) природного изотопного состава (D/H=140 ppm) – BD, полученная путем очистки апиrogenной дистиллированной воды в системе Milli-Q (Millipore, Великобритания); вода с пониженным содержанием дейтерия (deuterium depleted water – DDW, D/H=12 ppm, «лёгкая» вода) получена низкотемпературной вакуумной ректификацией.

В исследовании использовали международный стандартный образец NIST SRM 2976, изготовленный в MEL IAEA (МАГАТЭ) и аттестованный Национальным институтом стандартов и технологий (NIST, USA).

Все результаты представлены для 3–5 повторов с доверительной вероятностью 95%. Каждое измерение было выполнено в полном цикле воспроизведения всего эксперимента с 15–25 кратным повторением измерений внутри одного цикла. Статистическая обработка результатов выполнена с использованием программы OriginPro®9, OriginLab Corporation, USA.

Приборы и оборудование. Содержание микроэлементов в растительных материалах определяли методом РФА, используя энергодисперсионный рентгено-флуоресцентный спектрофотометр на базе кремниевого дрейфового детектора с термоэлектрическим охлаждением – EDX-7000 (Shimadzu, Япония). Для изме-

рения интенсивности излучения были выбраны одинаковые настройки прибора для всех видов исследуемых образцов: закрытая кювета, майларовая плёнка, коллиматор 10 мм, время экспозиции 1000 с, $I=100 \mu\text{A}$. Полученные результаты сравнивали с результатами анализа тех же материалов аккредитованным методом – атомно-абсорбционной спектрометрией (ААС): спектрометр «SpectrAA-800» (Agilent Technologies, США) с электротермической атомизацией и Зеемановской коррекцией фона после предшествующей кислотной минерализации растительного материала под действием микроволнового облучения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Определение содержания микроэлементов в референс-образце методом РФА. При анализе материалов органической природы возникают дополнительные сложности, обусловленные выбором материала матрицы («подложки»). В связи с этим для построения калибровочных прямых нами были исследованы различные по природе материалы матрицы: лактоза, борная кислота и БСА). Как и ожидалось, калибровочные графики критически зависят от природы матрицы, а в случае БСА зависимость сигнала флуоресценции от массовой доли сульфата цинка имеет сигмоидный вид. Это указывало на необходимость применения протокола QA/QC и использования международного референс-образца со сложной органической матрицей. Для обеспечения метрологической достоверности результатов анализу растительных материалов предшествовало исследование референс-образца с известным содержанием микроэлементов. Референс-образец представляет собой высокодисперсный порошок биологического материала, гомогенизированный и высушенный методом лиофильной сушки [4].

Элементный профиль международного стандартного образца NIST SRM 2976: был измерен с кюветой с полипропиленовой пленкой, в режиме внешней атмосферы, коллиматор — 10 мм. Для элемента Cl интенсивность флуоресценции составила $6,34 \pm 0,09 \text{ cps}/\mu\text{A}$, а содержание $57000 \pm 5000 \text{ мкг/г}$; для K – $3,31 \pm 0,02$ и 9700 ± 500 , соответственно; для Ca – $10,26 \pm 0,03$ и 7600 ± 300 ; S – $0,66 \pm 0,02$ и $0,109 \pm 0,008$; Br – $3,78 \pm 0,04$ и 329 ± 15 ; Fe – $2,80 \pm 0,03$ и $171,0 \pm 4,9$; Zn – $0,67 \pm 0,01$ и $137,0 \pm 13,0$; Cu – $3,32 \pm 0,28$ и $4,02 \pm 0,33$; Mn – $0,40 \pm 0,01$ и 33 ± 2 ; Se – $0,023 \pm 0,002$ и $1,80 \pm 0,15$; Sr – $4,32 \pm 0,39$ и 93 ± 2 . Полученные результаты соответствовали представленному протоколу для референс-образца.

2. Сравнение результатов анализа методами РФА и ААС при определении цинка в различных растительных материалах. На основании результатов, полученных для референс-образца, было определено содержание цинка в плодах и семенах четырёх растений двумя методами анализа (таблица 1).

Таблица 1. Содержание цинка ($\bar{X} \pm S$) в плодах и семенах различных растений. $n=3$, $P=0,95$.

Table 1. Zinc content ($\bar{X} \pm S$) in the fruits and seeds of various plants. $n=3$, $P=0.95$

Вид растительного сырья	Содержание цинка, мкг/г	
	Метод РФА	Метод ААС
Плоды укропа кустистого (semina <i>Anethi graveolentis</i>)	$68,0 \pm 0,6$	74 ± 15
Семена тыквы обыкновенной очищенные (semina <i>Cucurbitae pepo</i>)	$160,0 \pm 0,8$	101 ± 20
Семена мяты полевой (semina <i>Menthae arvensis</i> L.)	$62,0 \pm 0,1$	67 ± 13
Семена мяты полевой (semina <i>Menthae arvensis</i> L.)	$57,0 \pm 0,6$	63 ± 13

Сличение результатов, полученных двумя методами, свидетельствует о их высокой сходимости. Результат представляет несомненный интерес с точки зрения идентичности элементных профилей семян растений различных видов. Некоторые элементы полностью совпадают по содержанию, другие отличаются, но в пределах одного порядка.

3. Влияние высушивания растительного сырья на результаты элементного анализа методом РФА.

Для исследования влияния высушивания растения на результаты определения микроэлементов в растительном сырье методом РФА были исследованы элементный профиль листьев свежей и высушенной каллизии душистой (рисунок 1).

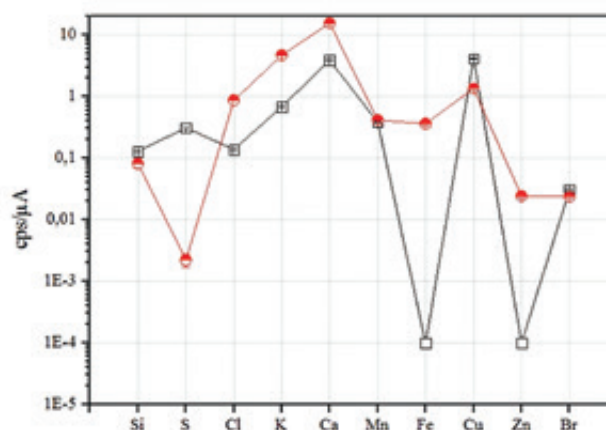


Рисунок 1. Микроэлементные профили свежих и высушенных листьев каллизии душистой (folia *Callisiae fragrantis* L.): свежее сырье – квадрат; высушенное сырье – круг. Ордината – $\log_{10}(\text{cps}/\mu\text{A})$

Figure 1. Trace element profiles of fresh and dried leaves (folia *Callisiae fragrantis* L.): fresh raw material – square; dried raw – circle. The ordinate is $\log_{10}(\text{cps}/\mu\text{A})$

Полученный результат позволяет разделить элементы на три группы. Первая группа – это сера и медь: для них характерно снижение содержания в пробе после высушивания. Для них возможен переход в газовую фазу летучих соединений неорганической и органической природы. Вторая группа – это кремний, мар-

ганец и бром – характеризуется отсутствием влияния высушивания на результат анализа. К ней следует отнести также хлор, калий и кальций – их содержание изменяется, но незначительно, в пределах одного порядка. Третья группа – это железо и цинк. Обнаруженное увеличение их содержания на несколько порядков при высушивании растения связано с тем, что координационные хелатные соединения с центральными атомами Fe(II) и Zn(II), расположенные в различных органеллах растения, при потере влаги в процессе высушивания сырья концентрируются и становятся проникаемыми для рентгеновских лучей.

4. Влияние диспергирования растительного материала на результаты определения микроэлементов методом РФА. Влияние степени измельченности растительного материала на результаты элементного анализа исследовали для цельных, резаных и гомогенизированных семян каланхоэ (рисунок 2).

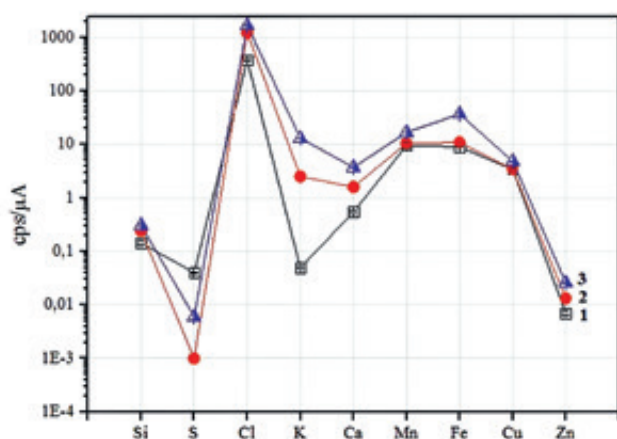


Рисунок 2. Микроэлементные профили семян каланхоэ Дагремона (*semina Kalanchoës daigremontianae*) цельных – 1, резаных – 2 и гомогенизированных – 3. Ордината – $\log_{10}(\text{cps}/\mu\text{A})$

Figure 2. Trace element profiles of *Kalanchoe Dagremon* seeds (*semina Kalanchoës daigremontianae*) whole – 1, cut – 2 and homogenized – 3. The ordinate is $\log_{10}(\text{cps}/\mu\text{A})$

Как следует из полученных результатов, гомогенизированная проба в целом дает более высокий сигнал. Особенно ярко эта картина проявляется для калия, кальция и железа. Используя метод РФА для определения этих элементов в растительном сырье, пробу, несомненно, надо гомогенизировать. Нами были поставлены специальные эксперименты по накоплению макро- и микроэлементов в различных частях листовой пластинки. Оно может достигать порядковых различий при движении от корешка к апикальной части. Это явление необходимо учитывать при трактовке результатов РФА и разработки методики пробоподготовки.

5. Влияние соотношения изотопологов водорода D/H в питательных водных растворах цинка глицината на степень накопления цинка в листьях

каллизии душистой. Среди эссенциальных d-элементов цинк является наименее токсичным как для растений, так и для животных. В то же время использование неорганических солей цинка в питательных средах невозможно из-за низких значений pH вследствие гидролиза. Побеги каллизии душистой инкубировали в описанном растворе глицината цинка. Выбор именно этого соединения цинка(II) не случаен, так как ранее нами была доказана его противотуберкулезная активность [5]. Принимая во внимание известный кинетический изотопный эффект водорода для ряда процессов в живых организмах [6], эксперимент проводили с растворами цинк-глицинатного комплекса в бидистиллированной воде (BD) и в воде, обедненной по дейтерию (DDW). За 12 суток содержание цинка в листьях достигло, мкг/г: 0,01–0,02 (BD без глицината цинка); $0,43 \pm 0,05$ (BD с глицинатом цинка); $1,75 \pm 0,25$ (DDW с глицинатом цинка). Как видно, коэффициент накопления цинка при инкубации корней растения в растворе глицината цинка в DDW возрастает многократно по сравнению с бидистиллированной водой природного изотопного состава (таблица 2).

Таблица 2. Коэффициент накопления цинка в листьях каллизии душистой после 12-суточной инкубации корней в растворах глицината цинка в бидистиллированной воде ([D]/[H] = 142 ppm) и в воде, обеднённой по дейтерию ([D]/[H] = 12 ppm)

Table 2. Coefficient of Zinc accumulation in *Callisia fragrantis* L. leaves after 12 days root incubation in zinc glycinate solutions in bidistilled water ([D]/[H] = 142 ppm) and in deuterium depleted water (DDW) ([D]/[H] = 12 ppm)

Элемент	Коэффициент накопления	
	BD	DDW
Zn	40 ± 10	160 ± 10
Mn	$1 \pm 0,3$	$0,7 \pm 0,2$

Приведенные для сравнения результаты определения марганца, не образующего хелатный комплекс, свидетельствуют о постоянстве его содержания в тестируемом растении, независимо от изотопного состава воды. Таким образом, изменение изотопного состава воды может быть использовано в технологии получения элемент-модифицированных растений. Такого рода технологии позволяют использовать модифицированные лекарственные растения в качестве натуральных добавок при гипозементозах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе проанализированы элементные профили (в режиме интеркалибрации метода атомно-абсорбционной спектроскопии с графитовой атомизацией и зеемановской коррекцией фона при микроволновом озолении и метода рентгено-флуоресцентной спектроскопии (РФС) *in situ*) растительного сырья официальных и потенциальных лекарственных растений. Показано, что при условии использования референс-образцов МАГАТЭ со сложной органической матрицей возможно достоверное экспрес-определение микроэлементов в растительном материале с

помощью РФА. На результат определения критически влияет и диспергирование, и высушивание растительного материала, что объясняется крайней неоднородностью распределения микроэлементов в субмикронном и субмиллиметровом диапазоне размеров. Стандартизация пробоподготовки позволяет достичь 10% погрешности по типу А при определении цинка, марганца и железа. С помощью экспресс-анализа показан пример мониторинга изотоп-зависимой (D/H) технологии создания цинк-обогащенных лекарственных растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вернандский В. И. Биосфера и ноосфера. – М.: Наука. 1989: 261.
2. Сыроешкин А. В., Матвеева И. С., Чиквиладзе Г. Н. Результаты многолетних интеркалибраций в системе МАГАТЭ. *Микроэлементы в медицине*. 2010; 11(1): 11–14.
3. Krasovskii P. A., Karpov O. V., Balkhanov D. M., Lesnikov E. V., Darkin D. A., Ulyantsev A. S., Matveeva I. S., Pleteneva T. V., Syroeshkin A. V. Nanoparticales in natural mineral waters. Measurement procedure and results. *Measurement Techniques*. 2010; 53(8): 852–857. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11018-010-9587-6>
4. Calder J. A., Jamieson W. D. The Purpose and Program of the IOC/UNEP/IAEA Group of Experts on Standards and Reference Materials. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. 1990; 338: 378–379. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf00322497>.
5. Балышев А. В., Гребенникова Т. В., Сыроешкин А. В. Обоснование противотуберкулезного действия нового Zn²⁺-содержащего препарата (микроэлементные профили, клеточный иммунитет, неспецифическая резистентность). *Микроэлементы в медицине*. 2004; 5 (4): 6–8.
6. Goncharuk V. V., Syroeshkin A. V., Zlatskiy I. A., Uspenskaya E. V., Orekhova A. V., Levitskaya O. V., Dobrovolskiy V. I., Pleteneva T. V. Quasichemical description of the cell death kinetics of cellular biosensor *Spirostomum Ambigua* for testing the biological activity of aqueous solutions. *Journal of Water Chemistry and Technology*. 2017; 39 (2): 97–102.

REFERENCES

1. Vernandskiy V. I. The Biosphere and noosphere. – Moscow: Science. 1989. (In Russ.).
2. Syroeshkin A. V., Matveeva I. S., Chikviladze G. N. Results of long-term intercomparison exercises in IAEA system. *Trace Elements in Medicine*. 2010; 11(1): 11–14 (in Russ.)
3. Krasovskii P. A., Karpov O. V., Balkhanov D. M., Lesnikov E. V., Darkin D. A., Ulyantsev A. S., Matveeva I. S., Pleteneva T. V., Syroeshkin A. V. Nanoparticales in natural mineral waters. *Measurement procedure and results. Measurement Techniques*. 2010; 53(8): 852–857. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11018-010-9587-6>
4. Calder J. A., Jamieson W. D. The Purpose and Program of the IOC/UNEP/IAEA Group of Experts on Standards and Reference Materials. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. 1990; 338: 378–379. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf00322497>.
5. Balyshev A. V., Grebennikova T. V., Syroeshkin A. V. The substantiation of antituberculous effect of the new Zn²⁺-contained pharmaceutical (microelement profiles, cell immunity, nonspecific resistance). *Trace Elements in Medicine*. 2004; 5(4): 6–8 (in Russ.).
6. Goncharuk V. V., Syroeshkin A. V., Zlatskiy I. A., Uspenskaya E. V., Orekhova A. V., Levitskaya O. V., Dobrovolskiy V. I., Pleteneva T. V. Quasichemical description of the cell death kinetics of cellular biosensor *Spirostomum Ambigua* for testing the biological activity of aqueous solutions. *Journal of Water Chemistry and Technology*. 2017; 39(2): 97–102.