

На правах рукописи

ВИКТОРОВ ИЛЬЯ ВИКТОРОВИЧ

РАЗРАБОТКА МАЛОГАБАРИТНЫХ МАСС-
СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИХ СИСТЕМ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ
БИОФИЗИКИ

Специальность: 03.00.02 - биофизика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Санкт-Петербург – 2007

Работа выполнена на кафедре физико-химических основ медицины государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет»

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Член-корреспондент РАМН
Самойлов Владимир Олегович

Официальные оппоненты: доктор физико-математических наук, профессор
Галль Лидия Николаевна,
кандидат технических наук, доцент
Мешалкина Марина Николаевна

Ведущая организация: ФГУП НПО «Радиевый институт им. В.Г. Хлопина»

Защита состоится " ____ " _____ 2007г. в ____ часов _____

на заседании диссертационного совета Д 212.229.25 при ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет» по адресу: 195251, г. Санкт-Петербург, ул. Хлопина, д. 5.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский Государственный Политехнический Университет»

Автореферат разослан " ____ " _____ 2007 г.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета

Кандидат физико-математических наук

Власова О.Л.

Актуальность темы. Важнейшей задачей экологической биофизики является определение состава проб, находящихся в различном фазовом состоянии. Проведение мониторинга соединений вне лаборатории оказывается необходимым также в экологии и медицине. Добиться высокой эффективности таких исследований можно лишь при условии применения надежных портативных инструментов высокой чувствительности. Среди известных методов масс-спектрометрия обеспечивает минимальное время анализа, требует наименьшего количества пробы и позволяет получить наиболее полную и точную информацию о предмете исследования. В экологической биофизике прямое определение летучих органических соединений, продуктов процессов метаболизма, определение токсичных веществ, нарушающих функции органов и систем организма, а также определение состава биологических проб различных тканей во многих случаях требует создания прибора простой конструкции, малого веса и размеров.

Данные о составе веществ, полученные в процессе прямого внелабораторного анализа, часто являются ключевыми как в экологической биофизике, так и в экологических и медицинских исследованиях.

Цель работы: экспериментальное и теоретическое исследование процессов, связанных с введением целевых компонентов из пробы в вакуумную камеру масс-спектрометра и их ионизацией, направленное на создание портативных масс-спектрометров для проведения прямого физиологического и экологического мониторинга.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

а) теоретически обосновать и исследовать двухмембранную систему, позволяющую изучать процессы метаболизма бактерий паразитов в организме человека, а также проводить экологический контроль окружающей среды,

б) рассчитать ионный источник с электронным ударом, позволяющий обеспечить масс-спектрометрическое определение следов тяжелых металлов в водных пробах в прямых измерениях, для изучения влияния избытка тяжелых металлов на организм человека,

в) рассчитать и разработать малогабаритный масс-спектрометр со вторичной ионной эмиссией для анализа пептидов, протеинов, олигонуклеотидов, а также других биополимеров до 10^6 а.е.м., с целью изучения регуляторных процессов клеток и контроля лекарств в фармакологии.

Научная новизна. Предложена модель прохождения летучих органических соединений через двухмембранную систему ввода, позволяющая обогащать пробу целевыми компонентами до 10^6 раз. Создана методика расчета такой системы с учетом свойств материала мембраны и исследуемых соединений. Выбран режим введения

ароматических органических соединений, тиолов и диметилдисульфида в масс-спектрометр через систему полидиметилсилоксановых мембран, обеспечивающий изучение процесса метаболизма трихомонад с помощью портативного инструмента.

Получено экспериментальное распределение по энергии вторичных ионов, образованных под действием первичных частиц с энергиями ~ 100 кэВ. Впервые показано, что при фиксированной энергии первичных частиц ширина энергетического распределения вторичных ионов, в том числе и биологических, зависит от их массы и заряда и уменьшается обратно пропорционально величине $(M/q)^{1/2}$. Такой характер зависимости энергетического распределения позволил разработать малогабаритный линейный времяпролетный масс-анализатор для изучения регуляторных процессов клеток и контроля состава лекарств в фармакологии.

Практическая значимость. Создана двухмембранная система ввода пробы, позволяющая впервые с помощью малогабаритного масс-спектрометра определять летучие органические соединения в воде и воздухе на уровне единиц мкг/кг.

Разработан и создан ионный источник с электронным ударом, обеспечивающий высокую эффективность ионизации нелетучих веществ, экстрагируемых из воды. Впервые мобильный масс-спектрометр, оснащенный таким источником, позволяет определять тяжелые металлы в водной пробе на уровне ~ 10 мкг/л.

Рассчитана и разработана схема малогабаритного линейного времяпролетного масс-спектрометра со вторичной ионной эмиссией для экспрессного определения молекулярного веса биополимеров до 10 000 а.е.м. Совместно с Радиевым Институтом им. В.Г.Хлопина проведены испытания времяпролетного масс-анализатора. Из результатов следует, что с ростом массы вторичного иона улучшаются аналитические характеристики малогабаритного масс-анализатора, так для ионов >5000 а.е.м. его трансмиссия приближается к 90%, а разрешающая способность превышает 1000.

Положения, выносимые на защиту

1. Физико-химическая модель процесса обогащения пробы летучими органическими соединениями при стационарной диффузии через двухмембранную систему ввода. Выбор оптимальных параметров системы ввода, позволяющий обеспечить пределы определения а) индола, метантиола и диметилдисульфида в воздухе на уровне единиц мкг/м³, достаточном для идентификации процесса метаболизма бактерий паразитов *Ttichomonas vaginalis* в организме человека, б) ароматических органических соединений, n-алканов, и других веществ в атмосфере и гидросфере на уровне ПДК.

2. Источник ионов, в котором экстрагированные из водной пробы молекулы солей тяжелых металлов десорбируются за счет нагрева и ионизируются электронным ударом с высокой эффективностью. Результаты измерений градуировочных смесей, содержащих тяжелые металлы с концентрациями $100\text{мг/л} \div 10\text{мкг/л}$, показывающие возможность использовать малогабаритный масс-спектрометр для изучения влияния избытка тяжелых металлов в воде на организм человека.

3. Расчет схемы времяпролетного масс-анализатора. Результаты определения зависимости энергетического распределения вторичных ионов от их массы. Выбор оптимальных параметров малогабаритного масс-спектрометра для анализа биополимеров с молекулярной массой до 10 000 а.е.м., с целью изучения регуляторных процессов клеток и проведения контроля в фармакологии.

Апробация работы. Результаты работы представлены на конференции "Охрана окружающей среды" (7 декабря 2001 года), прошедшей в рамках VI-ой Санкт-Петербургской ассамблеи молодых ученых и специалистов, на 6-ом Международном Конгрессе «Вода: экология и технология» «ЭКВАТЭК-2004» (июнь, 2004 г., Москва, Россия), на международной школе-семинаре "Масс-спектрометрия в химической физике, биофизике и экологии" (4-7 октября, 2004г.), Звенигород, Московская обл., Россия, на конференции «Вакуумная техника и технология-2005»(май, 2005г.), Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, на Международной научно-практической конференции «МЕТРОМЕД - 2007»(17-19 апреля 2007 года), Санкт-Петербургский государственный политехнический университет.

Публикации. Основные материалы диссертации опубликованы в 6 научных работах.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения и списка литературы. Общий объем диссертации составляет 103 страницы текста, включая 2 таблицы, 19 рисунков. Библиография содержит 93 наименования.

Основное содержание диссертации

Во введении обоснована актуальность и перспективность темы исследования, сформулирована цель работы, перечислены её основные результаты, показана их научная и практическая значимость, указаны положения, выносимые на защиту, описана структура диссертации.

В первой главе диссертации, которая является обзорной, отмечено, что наиболее эффективными методами количественного анализа состава сложных органических и неорганических соединений в экологической биофизике, экологии и медицине, наряду со спектроскопией и хроматографией, является

также и масс-спектрометрия, причем масс-спектрометрия характеризуется наименьшими ограничениями для большинства областей применения. Показано, что одной из черт, характеризующих современное развитие масс-спектрометрии, является разработка портативных инструментов.

В настоящей главе описаны основные составляющие масс-спектрометрических систем: системы введения пробы, источники ионов и масс-анализаторы, которые, с одной стороны, допускают применение в малогабаритных конструкциях, а с другой стороны, позволяют обеспечить высокую чувствительность. Обоснованы преимущества мембранных систем введения пробы для проведения прямого анализа летучих органических соединений в жидких и газообразных пробах. Отмечена высокая надежность данных масс-спектрометрического анализа, полученных с использованием ионизации электронным ударом при изучении состава сравнительно легких органических и неорганических соединений. Показана возможность эффективного применения источника ионов со вторичной ионной эмиссией при изучении тяжелых биомолекул. Рассмотрены способы масс-спектрометрического анализа летучих органических соединений в воздухе и воде, тяжелых металлов в воде, а также способы изучения состава биопроб, успешно применяемые в стационарных лабораторных приборах, указаны причины, по которым в настоящее время их невозможно использовать при создании малогабаритных инструментов. Отмечено, что в экологической биофизике, медицине и экологии растет потребность в создании малогабаритных приборов для определения состава проб *in-situ*.

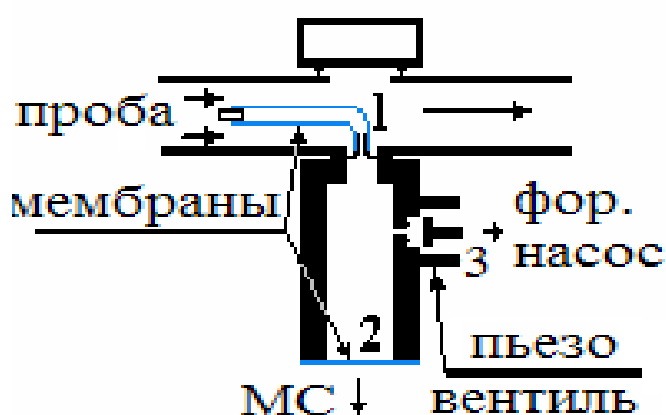


Рис.1 Мембранная система ввода пробы в масс-спектрометр, трубочатая мембрана - 1, плоская мембрана - 2, пьезоцикерамический вентиль – 3.

Во второй главе рассмотрена мембранная система ввода (рис.1), позволяющая обеспечить эффект обогащения пробы летучими органическими соединениями в процессе подачи её в прибор, равный произведению эффектов входящих в неё мембран.

Это достигается применением полидиметилсилоксановой мембраны с высокой селективной проницаемостью для летучих органических соединений [Maden A.J, Nayward M.J. Examination of a Variety of Sheet Materials for Use as Membranes in Membrane Introduction Mass Spectrometry //Anal. Chem.1996.V.68. P.1805-1811] и выбором режима введения пробы.

В главе также представлена физико-химическая модель процесса избирательной диффузии летучих органических соединений через двухмембранную систему ввода. Работа системы рассмотрена в квазистатическом режиме, отдельно для летучих органических соединений и компонентов матрицы (например, воздуха) и пояснена с помощью эквивалентных электрических схем на рис.2. В схемах потенциалы U имеют смысл парциальных давлений P веществ в пробе, сопротивления R соответствуют обратным значениям проницаемостей мембран σ и проводимости пьезовентиля, а токи через сопротивления R - потокам компонентов в системе.

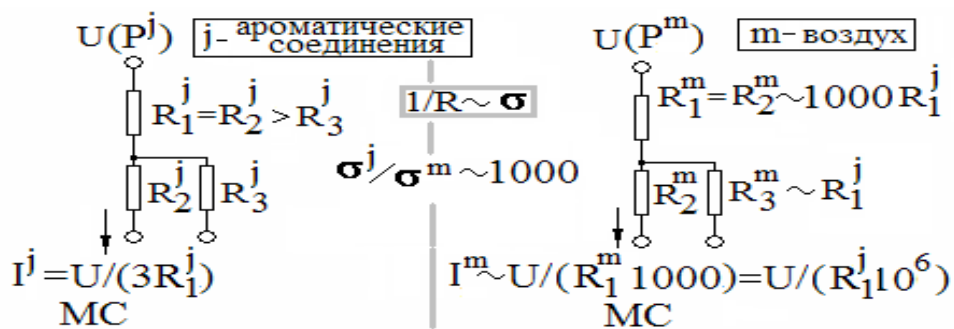


Рис.2. Эквивалентные схемы мембранной системы ввода
Целевые компоненты - j , вещество матрицы - m , трубчатая мембрана - 1,
плоская мембрана - 2, пьезокерамический вентиль - 3.

Применение предлагаемой модели оправдано при условии, что:

1) концентрация летучих органических соединений в пробе не превышает величины 0,01% по массе (при более высоких значениях концентрация нелинейно соотносится с потоками компонентов в прибор), 2) проводимости двух мембран, по отношению к летучим органическим соединениям, имеют близкие между собой значения, а проводимость пьезовентиля не превышает проводимости мембран (выполнение этого условия обеспечивает низкое суммарное давление компонентов в объеме между мембранами, а следовательно, и высокую селективность системы, 3) поток компонентов в прибор не должен создавать проблем для системы вакуумной откачки (в противном случае нарушается поддержание стационарного режима).

Во второй главе проведено обоснование оптимальных параметров систем ввода, из которого следует, что выбор величины отношения проницаемости мембран к

проводимости пьезовентиля по целевым компонентам находится в интервале значений $1/5 \div 1/10$ и обеспечивает, с одной стороны, близкую к максимальной величину эффекта обогащения:

$$E_{max} = (M^j/M^m)^{1/2} (\sigma^j/\sigma^m)^2,$$

где M – масса молекулы соответствующего компонента, а с другой стороны, не приводит к значительным потерям пробы при анализе.

На рис.2 представлен пример обогащения воздушной пробы ароматическими соединениями, для которого $\sigma^j/\sigma^m \sim 1000$.

Применение двухмембранной системы ввода в составе масс-анализатора, описанного в статье [V.T.Kogan, et. al. Design and Testing of a Portable Magnetic Mass Spectrometer.//Field Analytical Chemistry and Technology.V.1(6).P.331-342], позволило снизить пределы определения CO_2 в 10 раз, тиолов и ароматических органических соединений в 1000 раз без увеличения размеров инструмента (табл.1). Чувствительность такого прибора позволяет идентифицировать процессы метаболизма бактерий паразитов в организме человека: *Trichomonas vaginalis* - по индолу (продукту распада триптофана), метантиолу и диметилдисульфиду (продуктам метаболизма трихомонад), выделяемых псевами клеток паразитарных бактерий, *H-pilory* - по маркеру ^{13}C в выдыхаемом воздухе, а также контролировать токсичные летучие органические вещества в атмосфере и гидросфере на уровне ПДК.

а.			б.		
Пробы воздуха			Пробы воды		
Компоненты, J	Пределы определен. мкг/м ³	ПДК,* мкг/м ³	Компоненты, j	Пределы определен. мкг/л	ПДК,* мкг/л
метантиол	2		дихлорэтан	5	100
этантол	3		толуол	4	50
диметилдисульфид	2		дихлорбензол	8	40
индол	2		хлороформ	25	60
толуол	2	10	бензол	3	50
стирол	4	30	метан	60	
ксилол	5	200	этан	40	
бензол	3	10	пропан	28	
CO_2	1000		н-бутан	8	

Таблица 1. Пределы определения летучих органических веществ и газов, полученные с помощью малогабаритного масс-спектрометра с двухмембранной системой ввода: а) в пробах воздуха, б) в пробах воды. Пробы: ПИГС, чистые вещества (ВНИИМ). *"Гигиенические нормативы", 2.1.5.689-98, Минздрав России, Москва, 1998г.

В третьей главе рассмотрен малогабаритный масс-спектрометр для прямого определения тяжелых металлов, таких как Zn, Cu, Fe, Cd, As и других, в водных пробах. В приборе предусмотрена автоматизация процессов введения пробы, экстракции целевых компонентов и проведения измерений. Обоснован выбор схемы и конструкции источника ионов, встроенного в ионно-оптическую схему прибора. Источник обеспечивает высокую эффективность ионизации электронным ударом молекул пробы, десорбированных с поверхности экстрактора. Термодесорбция проводится при температурах $20^{\circ}\text{C} \div 1500^{\circ}\text{C}$ и позволяет определять концентрации как легкоплавких, так и тугоплавких веществ.

В настоящей работе рассчитана, создана и испытана конструкция источника ионов, с помощью которой удалось увеличить чувствительность прибора в 100-1000 раз по сравнению с прототипом [Коган В.Т. и др. Портативный масс-спектрометр для экспресс анализа растворенных в воде веществ.// ПТЭ. Т.42(9). С.141-145] и перейти к определению тяжелых металлов в воде на уровне ПДК ($1\text{мкг/л} \div 100\text{ мкг/л}$).

На рис.3 представлены фрагменты масс-спектров солей металлов, образованных в пробе, которая включает раствор металла в соляной кислоте, разбавленный дистиллированной водой. Из спектров следует, что хлориды металлов устойчивы (относительные и абсолютные амплитуды молекулярных пиков оказываются значительными в общем спектре масс) как к высокотемпературному прогреву, так и к ионизации электронным ударом.

Для увеличения надежности идентификации компонентов в смеси и повышения чувствительности анализа в приборе предусмотрена возможность определения масс-спектров соединений, десорбированных при различной температуре экстрактора (рис.4). Процесс термодесорбции солей тяжелых металлов с поверхности экстрактора, происходит под действием его нагрева током накала, дискретно нарастающим во времени. Прогрев экстрактора перед введением новой пробы позволяет практически полностью исключить его «химическую память» в диапазоне масс >100 а.е.м.

Установлено, что понижение содержания кислоты в исследуемом растворе ($< 1\%$ по массе) сопровождается значительным повышением содержания в нём комплексных соединений, включающих тяжелые металлы, приводящим к значительному снижению концентрации хлоридов металлов, а, следовательно, и снижению чувствительности прибора (рис.5).

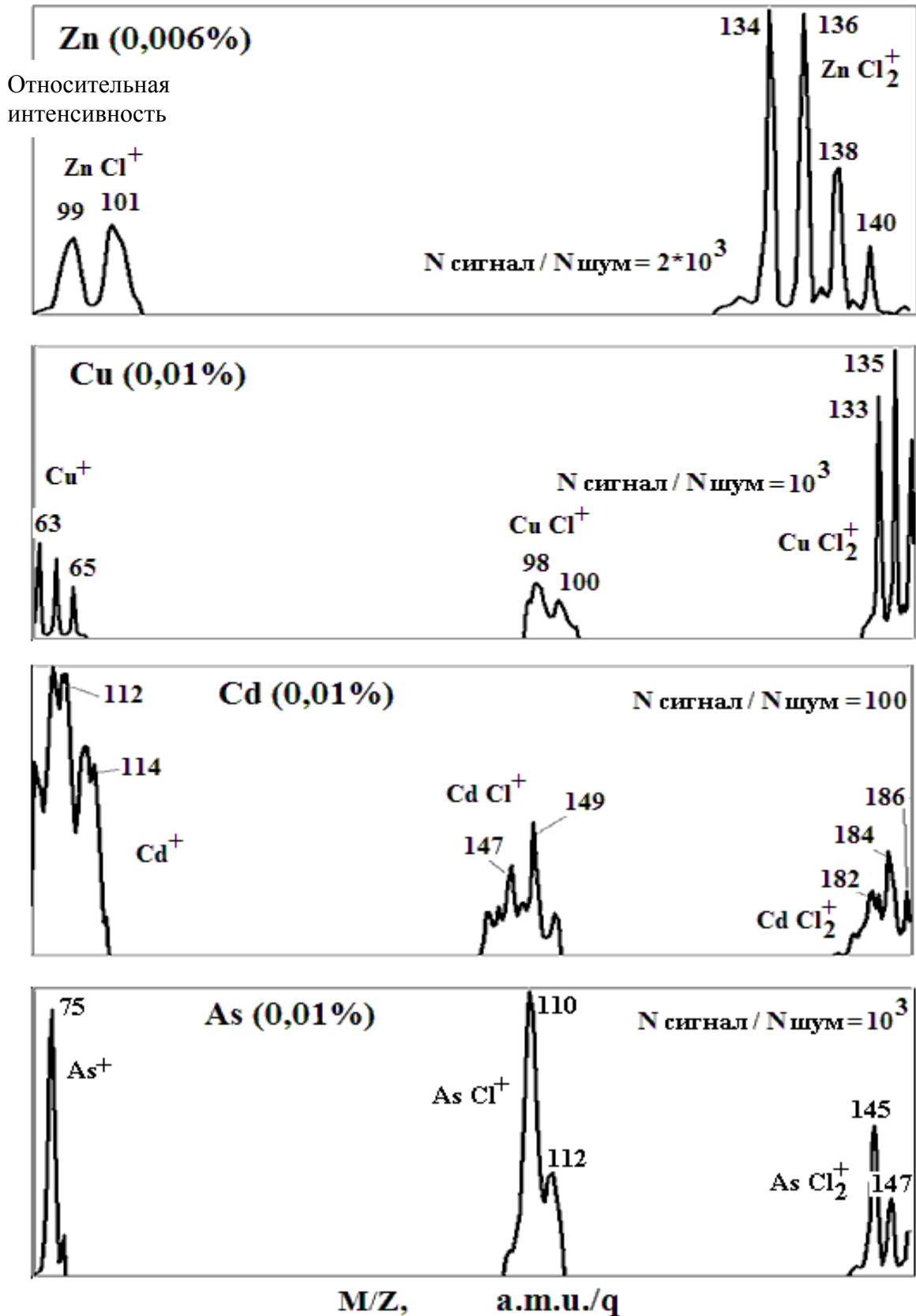


Рис.3. Фрагменты масс-спектров хлоридов металлов

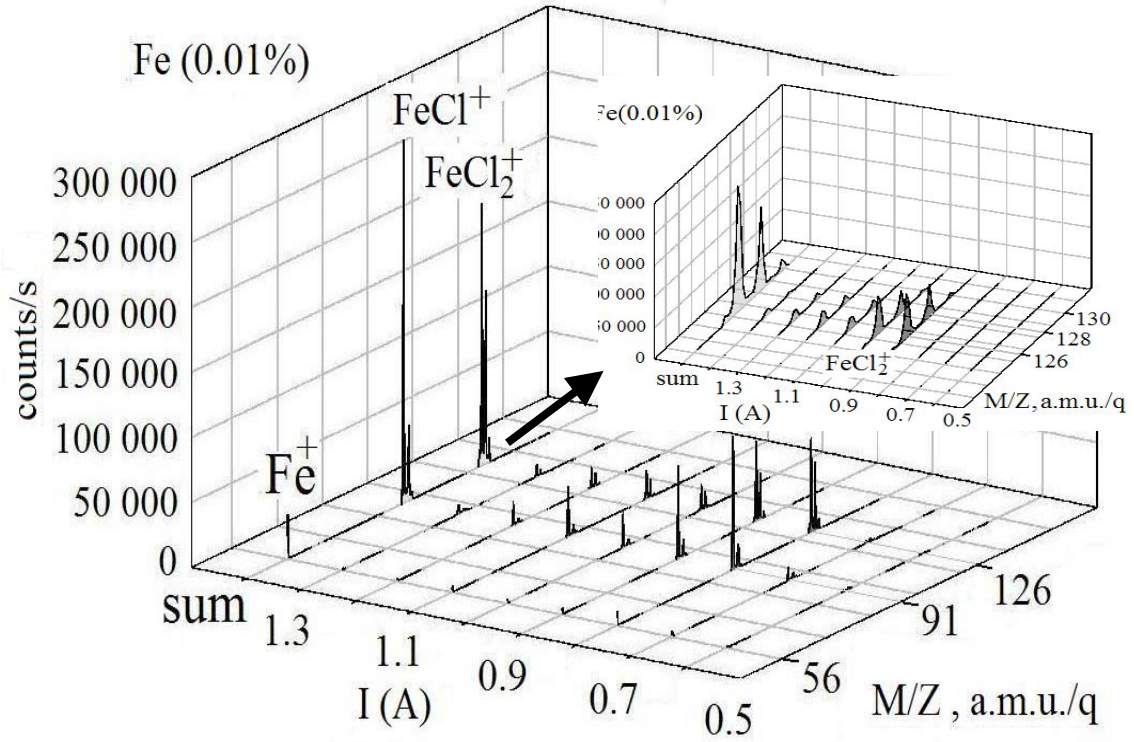


Рис.4. Фрагменты спектра хлорида железа при различных токах нагрева экстрактора

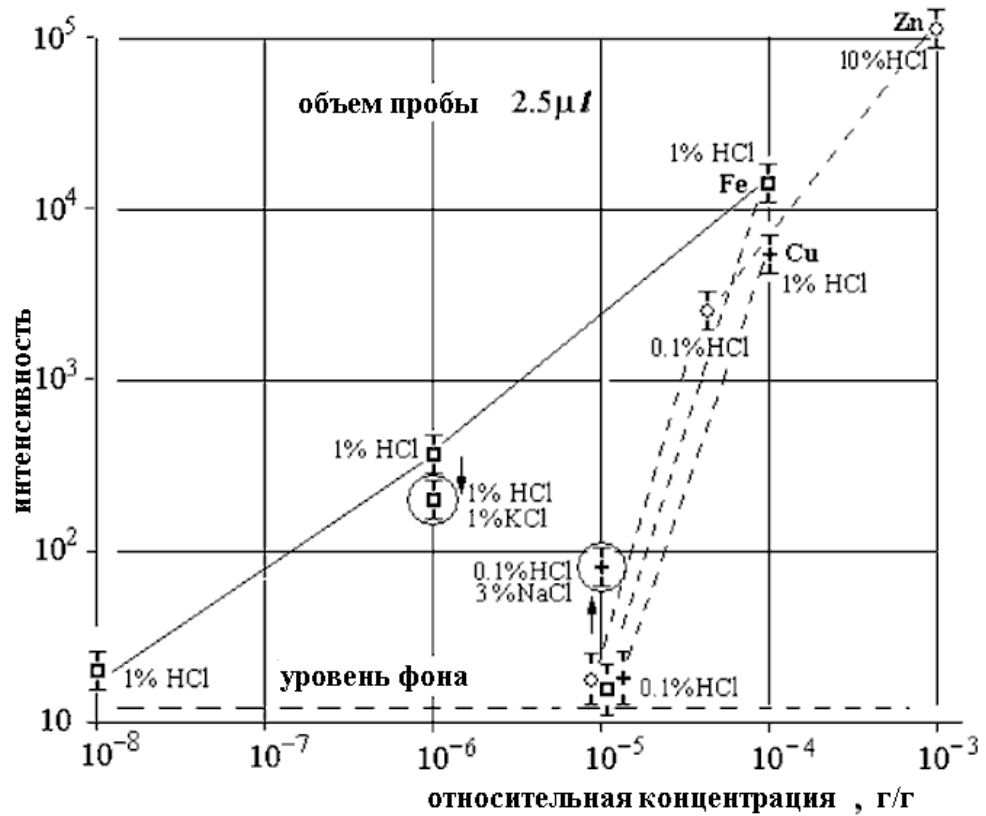


Рис.5. Соотношение между концентрацией определяемых компонентов и величиной отклика прибора

Поддержание кислотности раствора на уровне $\text{pH} \sim 2$ позволяет снизить пределы определения металлов в воде до уровня ($\sim 10 \text{ мкг/л}$), при котором становится возможным изучение влияния избытка тяжелых металлов на организм человека. В абсолютных количествах пределы определения металлов в воде составляют $25 \text{ пг} \div 2,5 \text{ нг}$.

В четвертой главе представлен расчет линейного времяпролетного энерго-масс-анализатора, разработка которого проводилась для решения двух основных задач. Первая - определение углового и энергетического распределения потока вторичных (биологических) ионов, образованных под действием первичных частиц. Вторая задача – выбор оптимальных параметров малогабаритного масс-спектрометра со вторичной ионной эмиссией для изучения состава биопроб, нанесенных на твердую подложку.

Схема макета масс-анализатора представлена на рис.6.

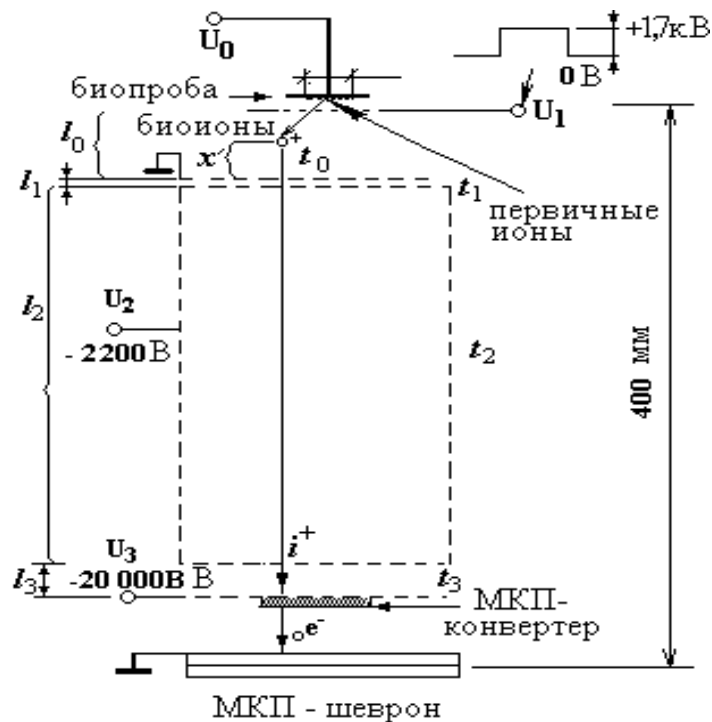
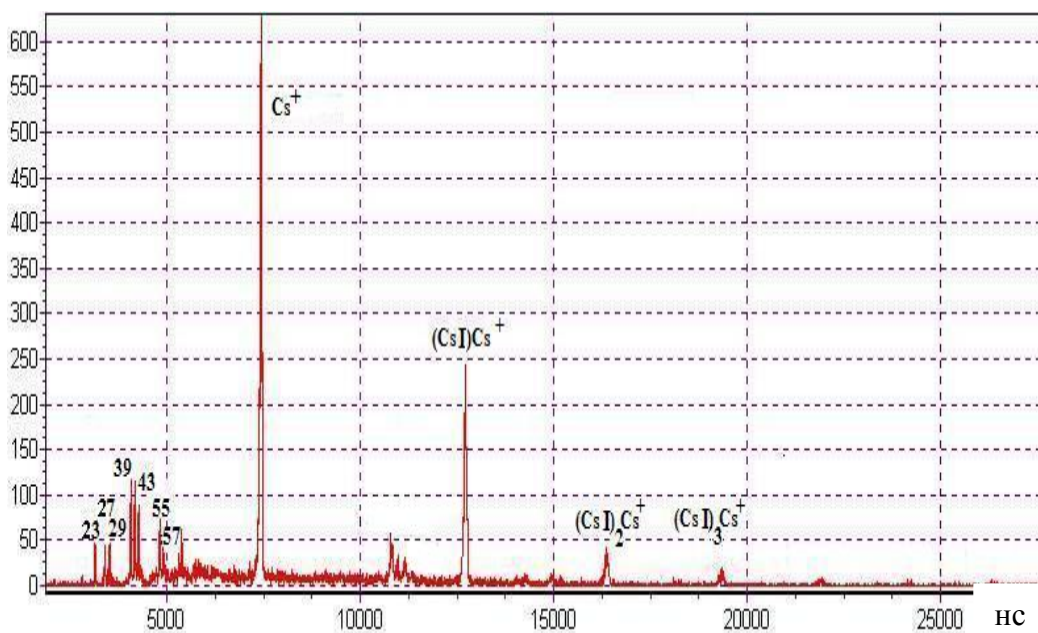


Рис.6. Схема времяпролетного энерго-масс-анализатора

Отличительной особенностью работы схемы является режим накопления вторичных ионов в области l_0 . Параметры схемы: l_0 , l_1 , l_2 и U_1 , U_2 , U_3 выбраны так, что позволяют обеспечить пространственно-временную фокусировку второго порядка вторичных ионов, то есть выполнить условие: $\partial^2 t / \partial x^2 = 0$, в пренебрежении исходной энергией частиц. Испытание макета прибора проходило с использованием проб, содержащих CsI и gramicidin. Их демонстрационные временные спектры представлены на рис.7а,б.

а.



б.

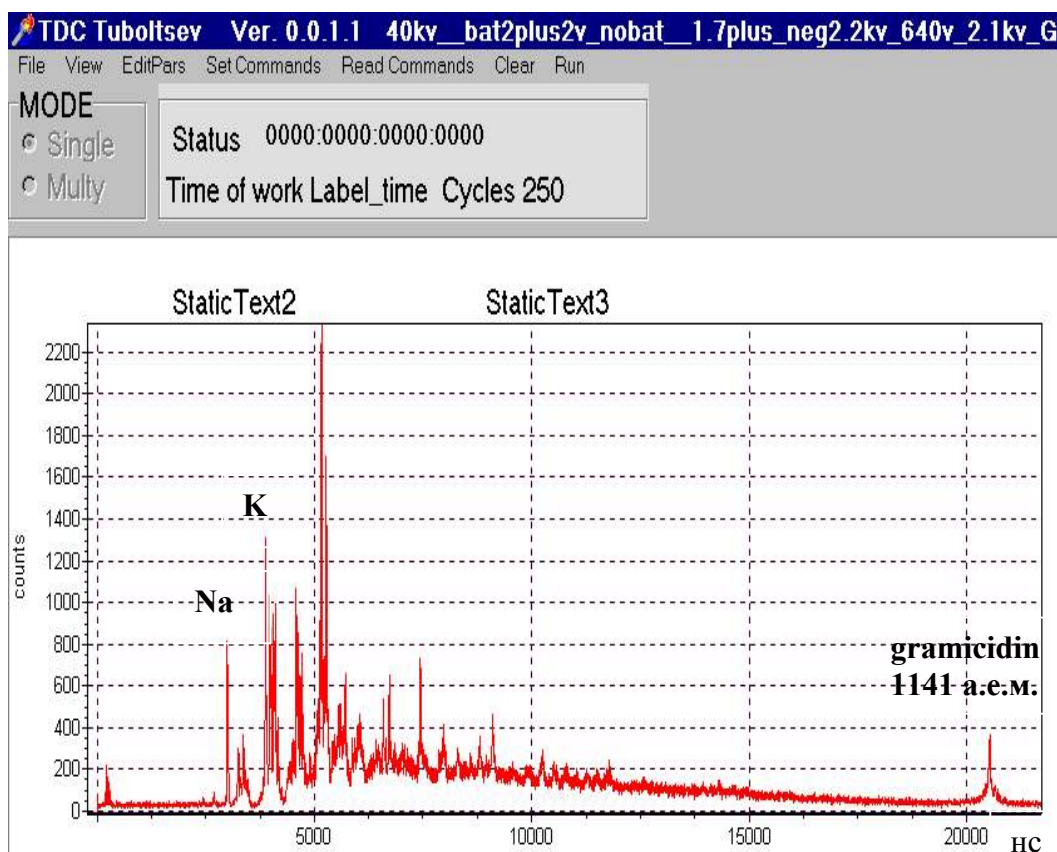


Рис.7. а. Фрагменты масс-спектров, полученные от пробы а) CsI, нанесенной на подложку из рения, б) gramicidin на подложку из кремния.

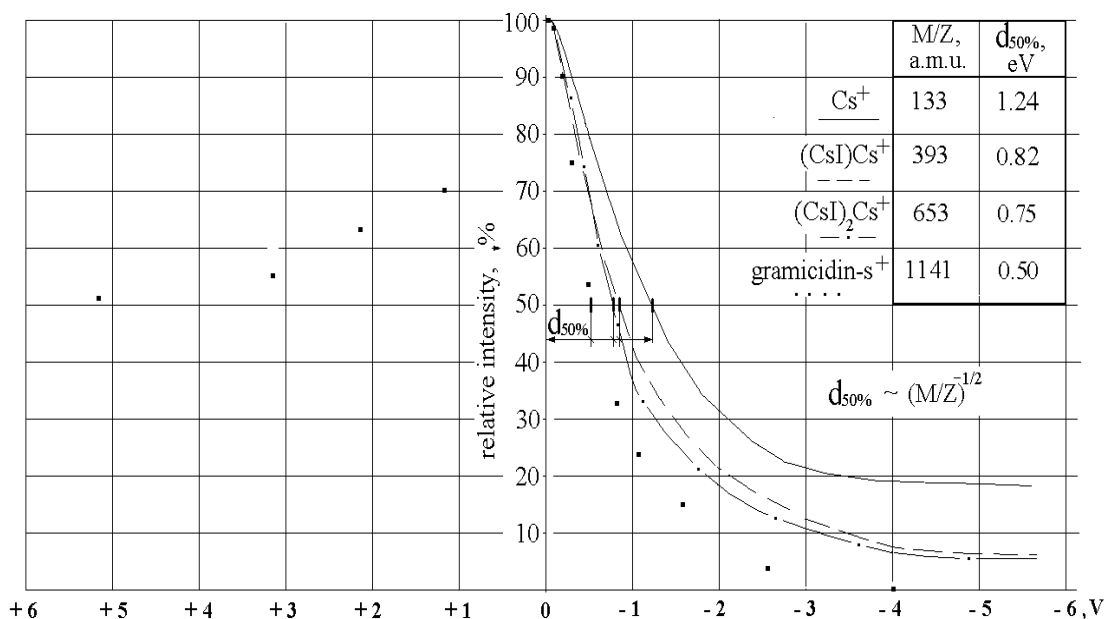


Рис.8. Относительная интенсивность вторичных ионов, генерируемых ионами кластеров золота (~10нм), ускоренных до 20 кВ, при различных потенциалах подложки.

Подведение разных потенциалов к электроду (U_0), на который нанесена исследуемая проба, и к выталкивающему электроду (U_1) позволило за счет изменения потенциала U_0 провести энергоанализ вторичных ионов и оценить их угловое распределение (рис.8).

Результаты экспериментальной проверки показали, что угловое распределение ионов, образованных под действием потока кластеров золота, лежит в пределах ~50 градусов относительно нормали к поверхности мишени, а ширина распределения по энергии (d) на половине интенсивности уменьшается с ростом отношения массы вторичного иона к его заряду как $(M/q)^{-1/2}$.

Определена разрешающая способность масс-анализатора при различных режимах измерения, при этом величина положительного потенциала на подложке в интервале значений 1 В ÷ 5 В является наиболее приемлемой.

Конструкция анализатора с геометрическими параметрами l_0 , l_1 , l_2 равными 5 см, 0,3см и 33 см, соответственно, обеспечила разрешающую способность по массе для грамицидина ~500 (расчетное значение разрешающей способности для инсулина составило ~1200) и трансмиссию близкую к 90%.

Из полученных результатов следует, что чувствительность рассмотренного в настоящей работе линейного времяпролетного масс-спектрометра оказывается на порядок выше, а разрешающая способность приближается к значениям параметров масс-рефлектрона с ортогональным входом [Tempez, J.A., et.al. Orthogonal Time-of-Flight

secondary ion mass spectrometric analysis of peptides using large gold clusters as primary ions. // *Rapid Com. in Mass Spectr.* V.18. 2004. P. 371-376].

Предлагаемый прибор может применяться для проведения анализа малых интерференционных РНК, олигонуклеотидов и пептидов, до 10 000 а.е.м., для изучения регуляторных процессов клеток и проведения исследований в области биотехнологии.

Основные результаты и выводы:

1. Предложена физико-химическая модель процесса обогащения жидких и газообразных проб летучими органическими соединениями за счет избирательной диффузии через двухмембранную систему ввода. Обоснован выбор оптимальных параметров системы ввода, позволяющий обеспечить пределы определения а) индола, метантиола и диметилдисульфида в воздухе на уровне единиц мкг/кг, достаточном для идентификации процесса метаболизма бактерий паразитов *Ttichomonas vaginalis* в организме человека, б) ароматических органических соединений, н-алканов, и других веществ в атмосфере и гидросфере на уровне ниже ПДК.
2. Рассчитана и разработана схема источника ионов с электронным ударом, позволяющая осуществлять высокоэффективную ионизацию десорбированных молекул солей тяжелых металлов. С помощью мобильного масс-спектрометра, оснащенного таким источником, определены концентрации металлов в градуировочных смесях в интервале значений 100мг/л÷10мкг/л (ПДК по тяжелым металлам лежат в интервале значений 1мкг/л÷100 мкг/л), что позволяет использовать прибор для изучения влияния избытка тяжелых металлов в воде на организм человека.
3. Предложена и рассчитана схема времяпролетного энерго-масс-анализатора для изучения энергетического распределения вторичных ионов, десорбированных с поверхности твердых образцов. Определена зависимость ширины энергетического распределения вторичных ионов биологических и неорганических молекул, образованных под действием потока ускоренных (до 20÷40 кВ) первичных ионов, от массы и заряда вторичных частиц: $\Delta E \sim (M/Q)^{-1/2}$. Показана возможность применения предложенной схемы в малогабаритном масс-спектрометре со вторичной ионной эмиссией для анализа пептидов, протеинов, олигонуклеотидов и других биополимеров с массой до 10 000 а.е.м., с целью изучения регуляторных процессов клеток и проведения контроля в фармакологии.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. **Викторова, О.С. Портативный масс-спектрометр высокой чувствительности для контроля загрязнений атмосферного воздуха и воды токсичными органическими веществами.** [Текст]/О.С.Викторова, С.А.Маннинен, И.В.Викторов //Тезисы докладов VI-ой Санкт-Петербургской ассамблеи молодых ученых и специалистов,"Охрана окружающей среды", Санкт-Петербург, СПбГТУ. -2001.- С.42.
2. **Дубенский, Б.М. Мультимембранные системы ввода токсичных веществ из воды или воздуха в мобильный масс-спектрометр.** [Текст]/ Б.М.Дубенский, С.П.Паринов., О.В.Смирнов, В.Т.Коган, О.С.Викторова, И.В.Викторов. // Материалы 6-ого Международного Конгресса «Вода: экология и технология» «ЭКВАТЭК-2004».- 2004.- www.ecwatech.ru, статья 1357г.
3. **Коган, В.Т. Возможности масс-спектрометра, оснащенного системой ввода Левеллиновского типа, при анализе воздушных и водных проб.** [Текст]/ В.Т. Коган, О.С.Викторова, И.В. Викторов // ПТЭ.-2005.-№48(1).-С.1001-1004.
4. **Дубенский, Б.М. Масс-спектрометрические системы «Гранат» и мембранные системы ввода.** [Текст]/ Б.М.Дубенский, С.П.Паринов, О.В.Смирнов, В.Т.Коган, О.С.Викторова, И.В.Викторов.//Материалы международной школы-семинара "Масс-спектрометрия в химической физике, биофизике и экологии", Звенигород, Россия.-2004.- С.63.
5. **Коган, В.Т. Малогабаритные масс-спектрометры для космических исследований, экологического и технологического мониторинга.** [Текст]/ В.Т. Коган, А.К.Павлов, Ю.В.Чичагов, О.С.Викторова, И.В.Викторов, Д.С.Лебедев // Вакуумная техника и технология.- 2005.-№15(2).-С.77-88.
6. **Викторов, И.В. Малогабаритный линейный времяпролетный масс-спектрометр со вторичной ионной эмиссией для анализа биоионов.** [Текст]/ И.В.Викторов, С.А.Власов. Труды международной научной конференции «Измерительные и информационные технологии в охране здоровья МЕТРОМЕД - 2007», Санкт-Петербургский государственный политехнический университет. -2007.-С.46.