

**ДИСПЕРСИОННИЙ АНАЛІЗ ВЛИЯНИЯ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ
1,4-НАФТОХИНОНА НА АКТИВНОСТЬ Na^+ , K^+ -АТФ-АЗЫ МЕМБРАН
ЗАРОДЫШЕЙ ВЬЮНА**

А. Генега, М. Бура, Д. Санагурский

Львовский национальный университет имени Ивана Франко

ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина

e-mail: anastasiyah2@gmail.com

Оценено влияние аминокислотных производных 1,4-нафтохинона (в концентрациях 10^5 – 10^9 М) на активность Na^+ , K^+ -АТФ-азы в ранний период развития (60-330 мин) зародышей вьюна *Misgurnus fossilis* L. (фактор времени) с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Установлено, что их вклад в изменчивость активности исследуемого мембранного фермента является более весомым на стадии 8 деления (210 мин развития зародышей, 256 бластомеров) и несколько снижается на стадии 10 деления бластомеров (6 час развития, 1024 бластомера). Зародыши на стадии 8 деления бластомеров чувствительны к воздействию физических и химических факторов, что подтверждается результатами дисперсионного анализа.

Ключевые слова: 1,4-нафтохинон, аминокислотные производные, активность Na^+ , K^+ -АТФ-аза, бластомеры, зародыши вьюна.

УДК 616.152/153- 073.7

**ЗАСТОСУВАННЯ РФА ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЕЛЕМЕНТНОГО
СКЛАДУ СИРОВАТКИ КРОВІ**

А. Мешков, В. Кузнецов, Л. Гребеник, Л. Суходуб

Сумський державний університет

вул. Римського-Корсакова, 2, Суми 40007, Україна

e-mail: guhosotsu@gmail.com

У статті розглянуто особливості застосування рентгено-флуоресцентного аналізу (РФА) для вивчення зразків біологічного походження. Основна увага приділена використанню РФА для оцінки мінерального складу рідких проб. Розглянуто приклад застосування цього методу для визначення концентрації міді у сироватці крові за спрощеним експериментальним алгоритмом, який передбачає додавання стандарту елемента до зразка з подальшим розрахунком, виходячи з існування лінійної залежності інтенсивності піків у РФ-спектрах від концентрації елемента. Наведений принцип розрахунку з урахуванням концентрації стандарту у пробі сироватки крові та інтенсивності піків елемента у РФ-спектрах.

Ключові слова: рентгено-флуоресцентний аналіз, сироватка крові, елементний аналіз.

Аналіз мінерального складу біологічних зразків не втратив своєї актуальності і продовжує залишатися однією з основних сфер застосування та розробки нових аналітичних методів. У медицині дослідження такого роду є важливими для моніторингу та діагностики захворювань, патогенетичні причини яких пов'язані з порушенням мінерального обміну або дисбалансом деяких елементів. Одним із методів, що успішно застосовуються в подібних дослідженнях у всьому світі, є рентгено-флуоресцентний аналіз (РФА, РФ-аналіз) [1].

Вміст мікро- і макроелементів в організмі людини вивчається за допомогою РФ-аналізу таких діагностичних матриць як кров, сеча, кісткова тканина, волосся, біоптати тканин. Кількість елементів у сироватці крові найбільш точно відображає стан мінерального обміну в поточний період часу, тому досить часто застосовується для встановлення наявності дефіциту, надлишку або дисбалансу окремих мінералів. За допомогою РФ аналізу сироватки крові можна оцінити концентрації близько 28 елементів в одній пробі. РФА також відносять до незамінного інструменту досліджень вмісту токсичних елементів, таких як важкі метали, наявність яких в організмі є важливим діагностичним критерієм цілої низки захворювань [3, 4].

Застосування РФА для дослідження біологічних зразків має такі переваги як: можливість визначення великого набору елементів в одній пробі, широкий діапазон вимірюваних концентрацій, висока точність вимірювань. Слід також зазначити, що РФА зарекомендував себе як швидкий, чутливий і досить точний метод кількісного аналізу зразків біологічного походження. Поряд із цим, існують певні методичні труднощі, пов'язані з особливостями органічних матриць. Зокрема, однією з проблем є наявність елементів, які взагалі неможливо або важко визначити методом РФА. Крім того, кількість зразка, застосовуваного для аналізу, може істотно впливати на кінцевий результат у разі наявності елемента в концентраціях, що лежать нижче меж виявлення [2].

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були рідкі зразки сироватки крові, отримані з цільної крові згідно зі стандартною методикою [7]. Кількісний аналіз проводили на спектрометрі «ElvaX Light SDD» (Україна, Київ), який має широкий діапазон визначення елементів: від Na ($Z=11$) до U ($Z=92$). Технічні характеристики: рентгенівська трубка з родієвим анодом, 140 мкм берилієве вікно, охолодження на елементах Пельтьє; дозвіл рентгенівського детектора – 165 eV при 5,9 keV (лінія Mn $K\alpha$). Обробка енергетичних спектрів та кількісний і якісний аналізи проводили у програмному комплексі підтримки експерименту ElvaX. Рентгенограми отримували з використанням алюмінієвого фільтра. Час набору спектра варіювався від 120 до 2000 с.

Для оцінки вмісту міді в сироватці крові застосовували метод кількісного визначення елементного складу зразка. Цей метод заснований на додаванні відомої кількості державного

стандартного зразка (ДСЗ) елемента до проби сироватки крові, в якій визначається концентрація цього елемента. Для оцінки концентрації елемента в сироватці крові попередньо отримували РФ-спектр нативної сироватки. Далі виконували стандартну процедуру, яка описана у статті [5] і полягає в додаванні ДСЗ елемента до проби сироватки крові послідовно з певним кроком концентрації.

Результати і їхнє обговорення

Відомо, що при аналізі біологічних зразків вміст окремих елементів може бути мінімальним. Важливим параметром отримання РФ-спектрів є час накопичення. Саме тому спочатку було проведено дослідження щодо встановлення оптимального часу накопичення спектрів для аналізу мінерального складу сироватки крові. Час накопичення змінювали від 120 до 2000 с. Було показано, що час накопичення 1500 с є оптимальним, тобто достатнім для отримання в РФ-спектрах біозразків високоінтенсивних піків широкого діапазону елементів. Усі наступні спектри отримували при вказаному часі накопичення.

Для встановлення залежності зміни інтенсивності піків елементів від їх концентрації до сироватки крові об'ємом 1 мл додавали 1 мл дистильованої води та ретельно перемішували; 20 мкл отриманої суміші вносили до кювети. Раніше експериментально було доведено, що такий підхід є доцільним при аналізі зразків сироватки крові за допомогою РФА [7]. Кількісний аналіз вмісту Cu в сироватці крові проводили з використанням рідкого ДСЗ міді (1 мг/см^3), лінійно збільшуючи його концентрацію у пробі сироватки від 100 до 300 мкл [7]. Отримані результати наведені на рис. 1.

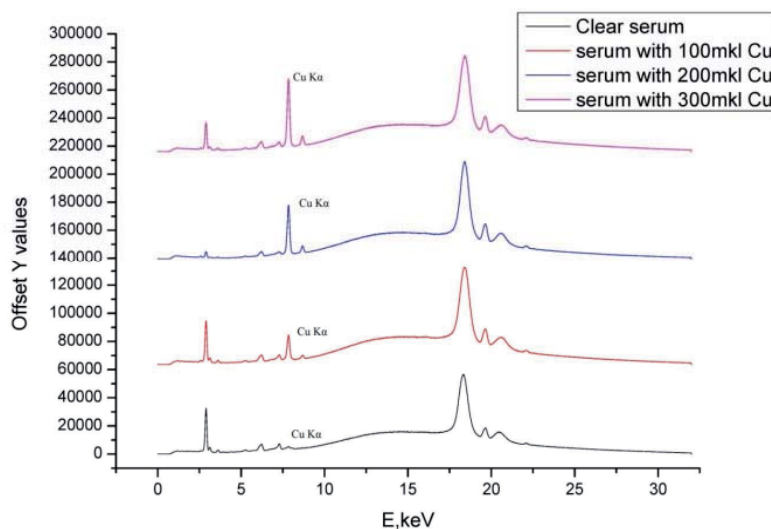


Рис. 1. РФ-спектри сироватки крові до і після додавання ДСЗ міді (100, 200, 300 мкг).

Після розрахунку концентрації Cu в чотирьох різних пробах сироватки крові була встановлена лінійна залежність інтенсивності характеристичних ліній міді в спектрах від концентрації цього елемента при додаванні різних кількостей ДСЗ міді. Отримані концентрації Cu в усіх пробах сироватки крові з урахуванням доданих об'ємів стандарту міді показані в таблиці. Наведені значення перебувають у повній відповідності до результатів, що були отримані для інших елементів за допомогою аналогічних спектроаналізаторів [6].

Розрахунок концентрації міді у пробах сироватки крові

№ проби	Об'єм стандарту, що додається, мкл	Інтенсивність, імп/с	Концентрація міді у пробі, мг/мл
1	0	10603	0,004241
2	100	121382	0,05
3	200	242080	0,1
4	300	335284	0,15

Розрахунок концентрації міді у досліджуваній пробі сироватки крові проводили методом екстраполяції за рівнянням прямої:

$$Y = 4 \cdot 10^{-7} X,$$

де X – значення інтенсивності піку характеристичної лінії елемента у будь якій точці прямої;

Y – значення концентрації елемента у пробі сироватки крові (мг/мл).

Згідно з отриманим результатом, після використання вказаної залежності концентрація елемента у зразку сироватки крові, який використовували, становила 0,004241 мг/мл.

Методичний підхід до визначення концентрацій елементів у сироватці крові за допомогою РФ-аналізатора «ElvaX-Light SDD», що був використаний у даній роботі для оцінки концентрації міді, з нашої точки зору, є альтернативним методом кількісного елементного складу біозразків при використанні РФА, який не передбачає попереднього калібрування приладу. Запропонований досить простий алгоритм визначення концентрації елементів у рідких біологічних зразках робить використання РФ-аналізу ще більш доступним для цієї галузі досліджень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Лосев Н. Ф. Количественный рентгеноспектральный флуоресцентный анализ. М.: Наука, 1969. 338 с.
2. Лямина О. И., Куприянова Т. А., Столяров И. П. и др. Рентгеноспектральный анализ крови без отделения органической составляющей // Аналитика и контроль. 2013.

Т. 17. № 2. С. 151–152.

3. *Ревенко А. Г.* Рентгеноспектральный флуоресцентный анализ природных материалов. Н.: Новосибирск, 1994. 364 с.
4. *Черноруков Н. Г., Нунрук О. В.* Теория и практика рентгенофлуоресцентного анализа: учебно-метод. пособие. Нижний Новгород: Нижегород. Гос. ун-тет, 2012. 44 с.
5. *Beauchaine M.* Review of TXRF applications for trace elemental analysis // TXRF Product Manager, Bruker AXS Inc. Madison, Wisconsin. 2013. P. 22–34.
6. *Canellas C. G. L, Carvalho S. M. F, de Jesus E. F. O.* et al. Analysis of low z elements in serum of patients with leukemias using total reflection X-ray // Activity Report. Brazil. 2007. P. 1–2.
7. *Stosnach H., Gross A.* S2 Picofox trace element analysis of blood samples // Bruker Nano GmbH, Berlin, Germany. Lab Report XRF 77. 2013. P. 2.

Стаття: надійшла до редакції 12.05.14

доопрацьована 22.09.14

прийнята до друку 23.09.14

THE USE OF RFA FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE ELEMENTAL COMPOSITION OF BLOOD SERUM

A. Meshkov, V. Kuznetsov, L. Grebenik, L. Sukhodub

Sumy State University

2, Rymkyio-Korsakov St., Sumy 40007, Ukraine

e-mail: guhosotsu@gmail.com

The article describes the features of the application of X-ray fluorescence analysis (XRF) for the study of biological samples. Capabilities of the research of liquid samples with using XRF were examined. An example of the application of this method for the determination of the copper concentration in serum of blood by a simplified experimental algorithm, which involves adding of the standard of an element to a sample with following calculation that based on the existence of a linear dependence of the intensity of the peaks in the XRF spectra on the concentration of the element. The said principle of the calculation is based on the concentration of standard in the serum sample and the intensity of the peak of element in the XRF spectrum.

Keywords: X-ray fluorescence, blood serum, elemental analysis.

ПРИМЕНЕНИЕ РФА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА СЫВОРОТКИ КРОВИ

А. Мешков, В. Кузнецов, Л. Гребеник, Л. Суходуб

*Сумской государственной университет
ул. Римского-Корсакова, 2, Сумы 40007, Украина
e-mail: guhosotsu@gmail.com*

В статье рассмотрены особенности применения рентгено-флуоресцентного анализа (РФА) для изучения образцов биологического происхождения. Основное внимание уделено использованию РФА для оценки минерального состава жидких проб. Рассмотрен пример применения этого метода для определения концентрации меди в сыворотке крови по упрощенному экспериментальному алгоритму, который предусматривает добавление стандарта элемента к образцу с последующим расчетом, исходя из существования линейной зависимости интенсивности пиков в РФ-спектрах от концентрации элемента. Приведенный принцип расчета с учетом концентрации стандарта в пробе сыворотки крови и интенсивности пиков элемента в РФ-спектрах.

Ключевые слова: рентгено-флуоресцентный анализ, сыворотка крови, элементный анализ.

УДК: 573.2:577.95

ІНТЕНСИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ У ЗАРОДКАХ В'ЮНА (*MISGURNUS FOSSILIS* L.) ЗА ВПЛИВУ КАТІОНІВ КАЛЬЦІУ ТА МАГНІЮ

А. Тарновська, О. Яцків

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: antoninat@pochta.ru*

Досліджено вплив іонів кальцію та магнію на динаміку процесів перекисного окиснення ліпідів каталази зародків в'юна. З'ясовано, що катіони кальцію інтенсифікують процеси ліпопероксидації у зародках в'юна, а катіони магнію, навпаки, знижують досліджувані показники на початкових стадіях дроблення бластомерів. Показано, що на першу годину розвитку в інкубаційному середовищі за відсутності іонів кальцію та магнію спостерігається максимальний рівень продуктів перекисного окиснення ($144,4 \pm 0,7$ ммоль/г білку $p \geq 0,99$), що ймовірно зумовлене посиленням утворення гідропероксидів, епоксидів, альдегідів, а також недостатньою ефективністю антиоксидантної системи. На пізніших