

**ВИЗНАЧЕННЯ НЕОРГАНІЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ У БІОЛОГІЧНИХ СУБСТРАТАХ
МЕТОДОМ РЕНТГЕН-ФЛУОРЕСЦЕНЦІЇ**

Літарова М.В.

ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

У статті представлені результати експериментальних досліджень по вивченню ймовірності використання методу рентген-флуоресцентної спектроскопії для кількісного визначення неорганічних елементів (Zn, Ga, Pb, Cu, Fe, Ni, Mn, Cr, Se) у біологічних субстратах.

У даний час особлива увага приділяється проблемам зниження витрат часу та матеріалів на проведення експериментальних і лабораторних робіт при одночасному підвищенні достовірності їх результатів. Це можливо тільки при модернізації матеріально-технічної бази діагностичних лабораторій, впровадженні нових технологій [3,4].

Речовини, які потрапляють в організм тварин, можуть викликати не тільки гострі та хронічні інтоксикації, які знижують їх продуктивність, але й негативно впливають на стан імунної системи організму. [4]. У ветеринарній практиці доводиться контролювати не тільки корми та продукти тваринного походження. Особливу групу представляють премікси, ветеринарні кормові добавки та лікарські препарати, в тому числі й біологічні, які також необхідно контролювати на наявність різних елементів. Найбільш поширені у ветеринарній практиці методи контролю цих речовин, хоча і мають досить високу чутливість і точність, орієнтовані на визначення одного конкретного елемента за один прийом, при досить високих витратах матеріалів та енергії [1,5,6].

Особливий інтерес при визначенні неорганічних елементів представляє метод рентген-флуоресцентного сканування. Метод рентген-флуоресцентного аналізу (РФА) заснований на використанні ефекту рентгенівської флуоресценції зразка проби з подальшим аналізом отриманих спектрів. При опроміненні зразка, підданого попередньо сухій мінералізації, рентгенівським променям виникає вторинна флуоресценція, спектр якої адекватно відображає елементний склад аналізованого зразка. Наявність у знятому спектрі характерних ліній свідчить про наявність відповідних елементів у пробі. По кількості імпульсів у характерній лінії спектру судять про концентрацію даного елемента в пробі [5].

Кількісний розрахунок елементів у пробі ускладнюється у зв'язку з індивідуальними особливостями кожної аналізованої матриці. Глибина проникнення рентгенівського випромінювання в опромінюваний зразок залежить від його структури (матеріалу), і тому метод вимагає відповідного коректування [1,2,7].

Метою роботи було, вивчення можливих напрямків використання приладу у ветеринарній науці та практиці, вдосконалення методичних прийомів визначення неорганічних елементів у кормах, субстратах тваринного походження, біологічних і фармакологічних препаратах, удосконалення способу кількісного розрахунку вмісту елементів у різних матрицях.

Матеріали і методи. Для дослідження використовували рентгенфлуоресцентний спектрометр – «Спектроскан-Макс-Г» НВО «Спектрон» (м. Санкт-Петербург), сухожарну шафа з програмованим нагрівом до 600 °С, ваги електронні з точністю до 0,1 г, ваги аналітичні електронні для зважування стандартів речовин і золи від оброблених проб з точністю до 0,001 г. Основні параметри роботи приладу при вимірі спектральних показників: перше відображення від 950 до 3150 мЕ, друге відображення від 315 до 1575 мЕ. Величина кроку приладу та час експозиції дорівнювали 4, діапазон визначених ліній елементів знаходиться в межах від Са (20) до U (92). Однак, не всі елементи володіють досить високим ступенем флуоресценції і, отже, можуть бути ідентифіковані.

Результати досліджень. При підготовці стандартної матриці, як еталону порівняння при кількісних розрахунках вмісту елементів у визначених субстратах, використовували кремнію двоокис (80–100 меш) прогріту при температурі 150 °С. Практично всі прилади, які використовуються для визначення неорганічних елементів, дають невеликий фон по міді (Cu). Величина цього фону повинна бути зафіксована та враховуватися при подальших розрахунках. В якості внутрішнього стандарту в матрицю вводили галій (Ga) або германій (Ge), які в природі зустрічаються дуже рідко.

При підготовці стандартної матриці, яку використовували потім для кількісного розрахунку металів у пробах, використовували зразки неорганічних елементів (ДСЗ) з концентрацією 1 мг / мл або 10 мг / мл. Суміш елементів у стандартній матриці підбирали з таким розрахунком, щоб спектри внесених елементів не накладалися один на одного. Зазвичай в одну стандартну матрицю підбирають від 6 до 10 елементів, наприклад: Se, Cu, Zn, Fe, Mn, Cr, Sr, U; з концентрацією від 0,1 до 1,0 мг/г.

Проби перед аналізом озольали шляхом спалювання в сухожарних установках з програмованим режимом температур. Для дослідження відбирали проби біологічних субстратів у кількості від 2 до 50 г (точність зважування до 0,1 г).

Тиглі, з біологічним субстратом поміщали в сушильну шафу з температурою 120–130 °С для визначення маси сухої речовини в пробі. Спалювання (озолення – до чорної або сірої золи) проводили при поступовому підвищенні температури від 150 до 400 °С, з кроком 50 °С за 1 годину. Для більш ефективного спалювання матеріалу в Тиглі іноді додавали пергідроль. Зазвичай отримують 0,2–1,5 г золи або обугленого матеріалу. При спалюванні біологічного матеріалу, який містить у своєму складі багато неорганічних елементів, отримують більшу кількість золи.

Для кількісного розрахунку елементів у кожну пробу золи внесили внутрішній стандарт у формі порошку двоокису кремнію з нанесеним галієм. Суміш золи і внутрішнього стандарту зважували, перемішували склянкою паличкою і перетирали в ступці. Подрібнений матеріал переносили у скляні баночки та зберігали до аналізу на приладі. Вимірювання проводили у відповідності з інструкцією по приладу.

За результатами ступеню флуоресценції внесеного в пробу внутрішнього стандарту і його ж у стандартній матриці розраховували коефіцієнт поправки (K), який вводили у формулу кількісного розрахунку елементів у досліджуваній пробі.

Для визначення стандартних характеристик проводили валідацію методу за міжнародними стандартами. При цьому визначали статистичні характеристики інтенсивності флуоресценції 6 елементів: Zn, Ga, Pb, Cu, Fe, Ni, Mn. Отримані дані щодо інтенсивності флуоресценції елементів свідчать про те, що середня помилка, при проведенні паралельних досліджень, не перевищує 5–10 %. Таким чином, при цьому відзначається високий ступінь точності та відтворюваності результатів.

Особливе значення у практичній роботі має показник лінійності при вимірюванні різних концентрацій елементів. Показник лінійності - це доказ того, що існує пропорційна математична закономірність при кількісному розрахунку вмісту елементів в аналізованих об'єктах. Ці дослідження проведені нами на 9 елементах (Zn, Ga, Pb, Cu, Fe, Ni, Mn, Cr, Se) при поетапному розведенні аналізованої матриці (Таблиця 1).

Таблиця 1 – Результати визначення рівня флуоресценції при поетапному розведенні матриці ($M \pm m$, $n = 8$)

Показники Елементи	Вихідна концентрація елементу (мг/г)	Рівень флуоресценції (Імп/с)			
		1	1/2	1/4	1/8
1	2	3	4	5	6
Zn	0,8	3372±183	1606±137	891±65	486± 45
Ga	1,0	3410±88	1658± 87	916±63	459± 25
Cr	1,0	227±22	102± 14	57±3	25±7
1Se	1,2	6729±99	3314±218	1845±98	932± 56

1	2	3	4	5	6
Cu	1,25	5595±149	2882±222	1727±122	1104± 131
Pb	1,5	2791±69	1403±119	777± 24	431±32
Ni	4,0	8766±185	4197±255	2292±115	1174±65
Fe	4,0	4272±73	1985±116	1110± 56	589± 35
Mn	4,0	2156± 59	999± 80	550± 34	283±17

Представлені в таблиці 1 дані свідчать про те, що при поетапному розведенні матриці зберігається чітка лінійна залежність від ступеня розведення вихідного матеріалу. При цьому середня помилка визначених показників і відхилення від розрахункових концентрацій не виходили за межі 10–15 %.

Проведеними дослідженнями встановлено також, що при теплової обробці матриці з температурою від 150 до 350 °С концентрація елементів у ній не змінюється. Не впливає на концентрацію елементів у матриці зберігання її протягом тривалого періоду часу.

Розроблена нами стандартна матриця та метод розрахунку кількісного вмісту елементів за допомогою внутрішнього стандарту був апробований на моделі мінеральної матриці, яка включала магнію оксид, оксид кальцію, натрію хлорид, кремнію діоксид і нанесені стандарти елементів у відомих кількостях. Основа матриці не містила фонових значень досліджуваних елементів до їх внесення (крім міді). Обумовлені елементи вносилися в певних кількостях із заздалегідь підготованих референтних стандартів. Отримані результати представлені в таблиці 2.

Таблиця 2 – Кількість елементів, що виявлено в моделі мінеральної матриці.

Показники Елементи	Концентрація внесеного в матрицю елементу (мг/г)	Концентрація елементу, яка виявлена в матриці (мг/г)	Lim (мг/г)
1 відображення			
Zn	0,25	0,254 ± 0,005	0,220 – 0,264
Pb	0,25	0,254 ± 0,081	0,212 – 0,285
Cu	0,25	0,242 ± 0,012	0,166 – 0,272
Fe	0,50	0,454 ± 0,018	0,353 – 0,517
Ni	0,50	0,496 ± 0,009	0,463 – 0,536
Mn	0,50	0,485 ± 0,012	0,445 – 0,536
2 відображення			
Sr	0,25	0,219 ± 0,014	0,235 – 0,259
U	0,25	0,279 ± 0,012	0,223 – 0,326

Представлені в таблиці 2 дані свідчать про те, що виявлені в моделі мінеральної матриці кількості елементів в усіх випадках збігаються з внесеними величинами і не відрізняються від них більш ніж на 5–10 %. Граничні величини визначених показників також знаходяться в припустимому рівні, що підтверджує достатню точність та відтворюваність методики. Таким чином, проведені нами дослідження показали перспективність даного методу визначення неорганічних елементів (Se, Cu, Zn, Fe, Mn, Cr, Sr, Ni, Pb, U та ін) у різних субстрахах біологічного походження і мінеральних кормових добавках, що використовуються в тваринництві.

Висновки: 1. Стандартна матриця, на основі діоксиду кремнію, з нанесеним внутрішнім стандартом (Ga), забезпечує отримання статистично достовірних результатів при аналізі та кількісному розрахунку вмісту Se, Cu, Zn, Fe, Mn, Cr, Sr, U; в субстрахах біологічного та мінерального походження.

2. Відтворюваність, точність та інші валідаційні характеристики даного методу дозволяють використовувати його для визначення різних неорганічних елементів у кормах, тканинах тваринного походження, фармакологічних та біологічних препаратах.

Список литературы

1. Новые методы анализа высокочистых и технических материалов «Атомно-абсорбционный анализ и его применение в народном хозяйстве» [Текст]: Материалы II Всесоюзной конф., 1990 г. Новосибирск : ИНХ СО АН СССР, 1990. — 232 с. 2. ЕС 657/2002. Европейські інструкції щодо застосування аналітичних методів та інтерпретації результатів [Текст]. — С. 92-112. 3. Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок [Текст] / М. В. Косенко [и др.] // Проблеми контролю якості у ветеринарній медицині та тваринництві — Львів, 2005. — Вип. 6, № 2. — С. 91-94. 4. Гигиенические нормативы химических веществ в окружающей среде [Текст]. С. Петербург : Професионал, 2005. — 21 с. 5. Бахтияров, А. В. Рентгеноспектральный флуоресцентный анализ в геологии и геохимии [Текст] / А. В. Бахтияров. — Л.: Недра, 1985. — 94 с. 6. Блохин, М. А. Физика рентгеновских лучей [Текст] / М. А. Бахтияров. — М.: ГИТЛ, 1953. — 94 с. 7. Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Validation of analytical procedures [Text] : International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for methodology Q2(R1). (nov. 2000) CAA, 2000. — 401 p.

DETRMINATION OF INORGANIC ELEMENTS (ZN, GA, PB, CU, FE, NI, MN, CR, SE) IN BIOLOGICAL SUBSRATES BY X-RAY FLUORESCENCE METHOD

Litarova M.V.

National Scientific Centre “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”,
Kharkov, Ukraine.

This paper presents results of experimental research on the study of possibility and perspective of use of X-ray fluorecence method for quantitative analysis of inorganic elements which have toxic value in biological substrates.

УДК 619:614.48:576.895.1:636:7:636.8

ЕФЕКТИВНІСТЬ ДЕЗІНФІКУЮЧИХ ПРЕПАРАТІВ ПРИ ГЕЛЬМІНТОЗАХ М'ЯСОЇДНИХ

Луценко Л.І., Темний М.В., Сумакова Н.В., Веселий В.А., Полещук Н.Г.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» УААН, м. Харків

Наведені результати лабораторних досліджень щодо дезінвазійної ефективності (99,7%-99,5%) дезінфектантів «Доместос» і «Комет з хлорінолом» при токсокарози собак і котів.

Відомо, що навколишнє середовище й організм тварин і людей у циклі розвитку гельмінтів взаємопов'язані та невід'ємні. Яйця і личинки більшості гельмінтів стають інвазійними тільки після перебування в навколишньому середовищі. Тому з епізоотологічної точки зору навколишнє середовище майже єдине джерело зараження проміжних і дефінітивних хазяїв.

За даними багатьох дослідників собаки, особливо суки та цуценята, уражені токсокарами від 28 до 93% [1]

Найнебезпечнішими в епідемічному плані є токсокари, як гельмінти, які зумовлюють у людей вісцеральний і очний синдром «блукаючої личинки» [2].

Збудник токсокарозу собак *Toxocara canis* паразитує в імагінальній стадії у представників сімейства псових — у тонкому відділі кишечника, в якому одночасно може паразитувати декілька десятків самок, а кожна самка продукує більше двохсот тисяч яєць за добу, тому кількість виділених у навколишнє середовище яєць виражається у мільйонах.

У спеціальній літературі описано випадки, коли вісцеральний синдром «блукаючої личинки» зумовлюють токсокари кішок. Збудник паразитує у тонкому відділі кишечника [2,3].

Основним джерелом ураження людей токсокарами є інвазовані собаки та кішки, що виділяють у навколишнє середовище в місцях вигулів яйця гельмінтів, які у ґрунті зберігають життєздатність протягом декількох років. Із приходом весни та настанням потепління за температури 15-18 °С в яйцях токсокар, виділених інва-