

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ОБРАЗЦАХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ, ВЫСОХШИХ НА ПОРИСТОЙ ПОВЕРХНОСТИ В ПРИСУТСТВИИ ОСАДИТЕЛЕЙ

М. П. ПАТАПОВИЧ¹⁾, И. Д. ПАШКОВСКАЯ²⁾, Н. И. НЕЧИПУРЕНКО²⁾, А. П. ЗАЖОГИН³⁾

¹⁾Белорусская государственная академия связи, ул. Ф. Скорины, 8/2, 220114, г. Минск, Республика Беларусь

²⁾Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии,
ул. Ф. Скорины, 24, 220114, г. Минск, Республика Беларусь

³⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Республика Беларусь

Методом лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектроскопии со вдвоенными лазерными импульсами изучено влияние различных осадителей (гидроксидов и фосфатов калия и натрия) на пространственное распределение катионов кальция, магния и алюминия в высохших на поверхности пористого тела биологических субстратах. Благодаря использованию осадителей повышены пределы чувствительности метода, что улучшает количественные оценки и ускоряет процесс анализа, приближая его к экспрессному. Полученные экспериментальные данные могут быть основой для дальнейшей разработки методологии ранней диагностики нарушения уровня функциональных резервов организма и системы реабилитационных мероприятий.

Ключевые слова: лазерная атомно-эмиссионная спектроскопия; вдвоенные лазерные импульсы; жизненно необходимые элементы; осадители.

DISTRIBUTION OF THE ESSENTIAL ELEMENTS IN SAMPLES OF BIOLOGICAL SUBSTRATES DRIED ON POROUS SURFACES IN THE PRESENCE OF PRECIPITATES

M. P. PATAPOVICH^a, I. D. PASHKOVSKAYA^b, N. I. NECHIPURENKO^b, A. P. ZAJOGIN^c

^aBelarusian State Academy of Communications, F. Skoriny street, 8/2, 220114, Minsk, Republic of Belarus

^bRepublican Research-Practical Center of Neurology and Neurosurgery, F. Skoriny street, 24, 220114, Minsk, Republic of Belarus

^cBelarusian State University, Nezavisimosti avenue, 4, 220030, Minsk, Republic of Belarus

Using multichannel atomic-emission spectrometry with double laser pulses, the effect of various precipitants (potassium and sodium hydroxides) on the spatial distribution of calcium, magnesium, and aluminum cations in the biological substrates dried on the

Образец цитирования:

Патапович М. П., Пашковская И. Д., Нечипуренко Н. И., Зажогин А. П. Распределение эссенциальных элементов в образцах биологических субстратов, высохших на пористой поверхности в присутствии осадителей // Вестн. БГУ. Сер. 1, Физика. Математика. Информатика. 2016. № 2. С. 67–72.

For citation:

Patapovich M. P., Pashkovskaya I. D., Nechipurenko N. I., Zajogin A. P. Distribution of the essential elements in samples of biological substrates dried on porous surfaces in the presence of precipitates. *Vestnik BGU. Ser. 1, Fiz. Mat. Inform.* 2016. No. 2. P. 67–72 (in Russ.).

Авторы:

Мария Петровна Патапович – кандидат физико-математических наук; доцент кафедры математики и физики факультета электросвязи.

Ирина Дмитриевна Пашковская – кандидат биологических наук; старший научный сотрудник.

Наталья Ивановна Нечипуренко – доктор медицинских наук, профессор; заведующий лабораторией клинической патофизиологии нервной системы.

Анатолий Павлович Зажогин – доктор физико-математических наук; профессор кафедры лазерной физики и спектроскопии физического факультета.

Authors:

Mariya Patapovich, PhD (physics and mathematics); associate professor at the department of mathematics and physics; faculty of telecommunication.

masha_p@tut.by

Irina Pashkovskaya, PhD (biology); senior researcher.

irenapass@mail.ru

Nataliya Nechipurenko, doctor of science (medical sciences), full professor; head of the laboratory of clinical pathophysiology of nervous system.

prof_nin@mail.ru

Anatoli Zajogin, doctor of science (physics and mathematics); professor at the department of laser physics and spectroscopy, faculty of physics.

zajogin_an@mail.ru

surface of a porous body has been studied. Due to the use of precipitates, the sensitivity limits of the method are extended to improve the quantitative estimates and to increase the analysis rate that becomes rapid. Based on the obtained experimental data, the early diagnostic methods for disorders in the functional reserves of a human organism may be developed further and a system of rehabilitation measures may be improved.

Key words: laser atomic-emission spectrometry; double laser pulses; essential elements; precipitates.

К настоящему времени накоплены многочисленные научные данные, показывающие взаимосвязь между неадекватной обеспеченностью организма человека различными макро- и микроэлементами и возникновением различных заболеваний. Доказано, что деформированный минеральный обмен не только в определенной мере обуславливает патогенез заболеваний, но и изменяет фармакокинетический и фармакодинамический ответ на лекарственное воздействие [1]. Дисбаланс химических составляющих в организме человека заключается, как правило, в недостаточном содержании некоторых эссенциальных (жизненно необходимых) макро- и микроэлементов и одновременно в избыточном накоплении отдельных токсичных металлов.

В связи с вышесказанным для ранней диагностики ряда заболеваний и лечебной коррекции восстановительных процессов, а также оптимального подбора лечения существует потребность в экспрессных методах определения содержания элементов в биологических материалах.

Анализ биообъектов – сложная аналитическая задача. Главные причины затруднений связаны с индивидуальностью состава и многокомпонентностью пробы. Пробоподготовка часто является сложным многостадийным процессом, лимитирующим скорость анализа. Одновременное определение микроконцентраций нескольких элементов требует большого количества исследуемого материала. Именно поэтому повышение чувствительности анализа актуально не только с теоретической, но и с практической точки зрения, что особенно важно, когда необходимо синхронно определять макро- и микроэлементы в отдельных фрагментах биологических образцов различного происхождения.

Одним из лучших методов оценки состояния минерального обмена в организме является анализ волос, которые накапливают практически все доступные для анализа элементы, поступающие в организм различными путями.

Для количественного анализа общего содержания элементов волосы минерализуют методом мокрого озоления и определяют элементы в высушенных пробах.

При проведении ретроспективной оценки содержания элементов по длине волос перевод вещества из органической в неорганическую форму не нужен.

Требованиям оперативного химико-аналитического контроля содержания различных металлов в объектах растительного и животного происхождения наилучшим образом удовлетворяет лазерный атомно-эмиссионный многоканальный спектральный анализ с применением сдвоенных лазерных импульсов [2–6].

Методика эксперимента

Для проведения исследований использовался лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1. В качестве источника абляции и возбуждения приповерхностной плазмы в спектрометрах используется двухимпульсный неодимовый лазер, обладающий широкими возможностями для регулировки как энергии импульсов, так и временного интервала между ними. Для выбора оптимальных параметров проведения эксперимента (временного межимпульсного интервала, энергии и количества сдвоенных импульсов, расфокусировки) были зарегистрированы спектры при различных значениях указанных величин и выполнены оценки их влияния на интенсивность линий химических элементов.

Найдено, что максимум интенсивности спектральных линий для большинства компонентов достигается при энергии 60 мДж, межимпульсном интервале – 8 мкс, числе импульсов – 30, параметре расфокусировки – +0,5 мм.

Предварительно проведенные исследования выявили необходимость повышения чувствительности методики при получении как интегральной, так и дифференциальной оценки содержания элементов в биологических субстратах.

Ранее было показано, что размер высохшей на пористой поверхности капли можно уменьшить, а значит, повысить чувствительность анализа, используя метод осадочной хроматографии, основанный на катионном обмене элементов. Добавляя осадитель, получаем возможность добиться быстрого осаждения нерастворимых солей, уменьшить размер зоны распространения элементов и таким образом увеличить интенсивность полос поглощения определяемых элементов. Эффективность этой методики с использованием гидроокисей и фосфатов натрия и калия была оценена при определении элементов в растворе альбумина [7, 8].

Некоторые показатели по растворимости солей кальция, магния, алюминия, железа, меди, цинка, натрия и калия приведены в таблице [9]. Хотя данные по растворимости, взятые из разных источников, могут несколько различаться, но они укладываются в следующий ряд: нитраты > хлориды > гидроксиды > фосфаты.

Растворимость солей в воде, г/100 г H₂O

Ацидолиганд	Элементы							
	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	Fe ³⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺	Na ⁺	K ⁺
Cl ⁻	74,5	54,3	45,8	91,9	72,7	367,6	35,9	34,4
NO ₃ ⁻	121,2	73,0	63,7	82,58	124,0	118,0	83,6	31,6
ОН	0,176	0,001 2	2,10 ⁻⁶	6,3 · 10 ⁻¹⁸	5 · 10 ⁻⁴	9 · 10 ⁻⁵	108,7	112,4
PO ₄ ³⁻	2 · 10 ⁻⁴	8,4 · 10 ⁻⁵	8 · 10 ⁻⁹	1,3 · 10 ⁻¹²	6,4 · 10 ⁻⁷	6 · 10 ⁻⁶	14,5	98,5
SO ₄ ²⁻	0,2	35,1	36,4	440,0	20,5	54,1	19,2	11,1

Фосфаты Ca, Mg и Al обладают наименьшей растворимостью по сравнению с гидроксидами, различие в растворимости фосфатов Fe, Cu и Zn относительно менее значительно.

Следует отметить, что после минерализации волос в исследуемых образцах присутствуют остаточные количества азотной кислоты, рН минерализованных растворов составляет 1–2. Размер высохшей на пористой поверхности капли анализируемого раствора связан с растворимостью присутствующих в анализируемом образце солей: чем больше растворимость соли, тем больше ее подвижность и размер пятна. Для нейтрализации минерализованных растворов анализируемых образцов резонно использовать в качестве осадителя в первую очередь гидроокиси щелочных металлов.

Методика подготовки образцов состояла в нанесении капли водного раствора осадителя объемом 10 мкл на поверхность беззольного бумажного фильтра (черная лента) диаметром 20 мм. Высушивание капли проводили при температуре 40 °С и относительной влажности воздуха 30–35 % в течение примерно 5 мин. Затем поверх высушенной соли наносили каплю анализируемого или стандартного водно-солевого раствора объемом 10 мкл определенной концентрации. В качестве осадителя применяли либо 5 % раствор гидроксида калия или натрия, либо 10 % раствор ортофосфата калия.

Все эксперименты проводили в атмосфере воздуха при нормальном атмосферном давлении. Анализировали суммарные результаты действия 30 последовательных сдвоенных лазерных импульсов (СЛИ). Энергия лазерного излучения составляла 60 мДж (первый и второй импульсы соответственно), временной интервал между сдвоенными импульсами – 8 мкс. Абляция осуществлялась через 0,6 мм. Размер точки повреждения составил примерно 0,10–0,15 мм. По диаметру пробы анализ проводили в 30 точках поверхности.

Экспериментальные результаты и их обсуждение

Распределение кальция по диаметру высохшей на пористой поверхности капли минерализованных волос при использовании различных нейтрализаторов-осадителей приведено на рис. 1, а. Для сравнения: на рис. 1, б, представлено распределение кальция в образцах нейтральных водных растворов нитрата кальция и минерализованных волос с добавлением щелочи и образцов минерализованных волос (ОМВ) без щелочи (мин.).

Характер распределения кальция на обоих рисунках достаточно схож. Наиболее похожи кривые распределения кальция в минерализованных волосах без осадителя и при использовании в качестве осадителя ортофосфата калия. Видно, что при добавлении щелочи NaOH область распределения кальция в минерализованных образцах волос несколько сужается (см. рис. 1, а) и вполне коррелирует с растворами сравнения (см. рис. 1, б). Наилучшие результаты достигаются при использовании NaOH в качестве осадителя, область растекания капли сужается более заметно, увеличивается интенсивность линии кальция. В связи с этим гидроокись натрия применяли в качестве осадителя при последующем количественном определении общего содержания макроэлементов в пробах минерализованных волос.

Для разработки методик проведения количественного анализа были приготовлены стандартные образцы с концентрацией анализируемых элементов в интервале от 0,001 до 0,10 %. Порядок нанесения растворов для анализа такой же, как и в случае исследования минерализованных волос.

Изменения интенсивности линии Ca II в спектрах по диаметру высохших каплей стандартных растворов с различными концентрациями элемента представлены на рис. 2, а. Определение проводили не менее 3 раз для каждой концентрации. На рис. 2, б, приведено распределение интенсивностей линий Ca II (393,366 нм), Al I (396,152 нм) и Mg I (383,829 нм) по диаметру капли для концентрации 0,01 % каждого из этих химических элементов.

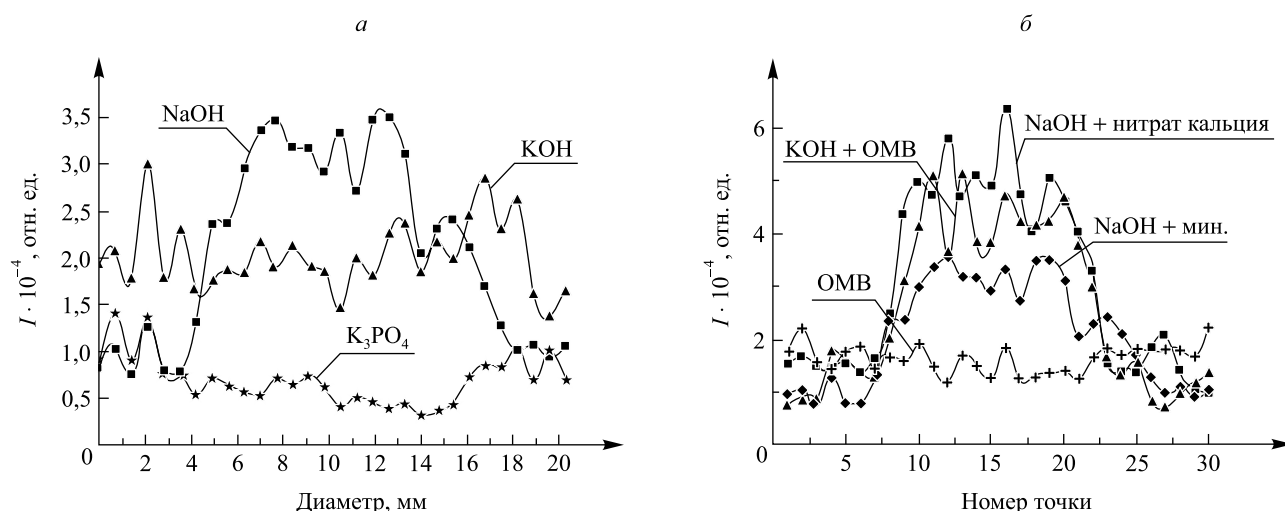


Рис. 1. Зависимость интенсивностей (I) линии Ca II (393,366 нм) по диаметру капли от осадителя: а – для образцов минерализованных волос; б – для образцов сравнения

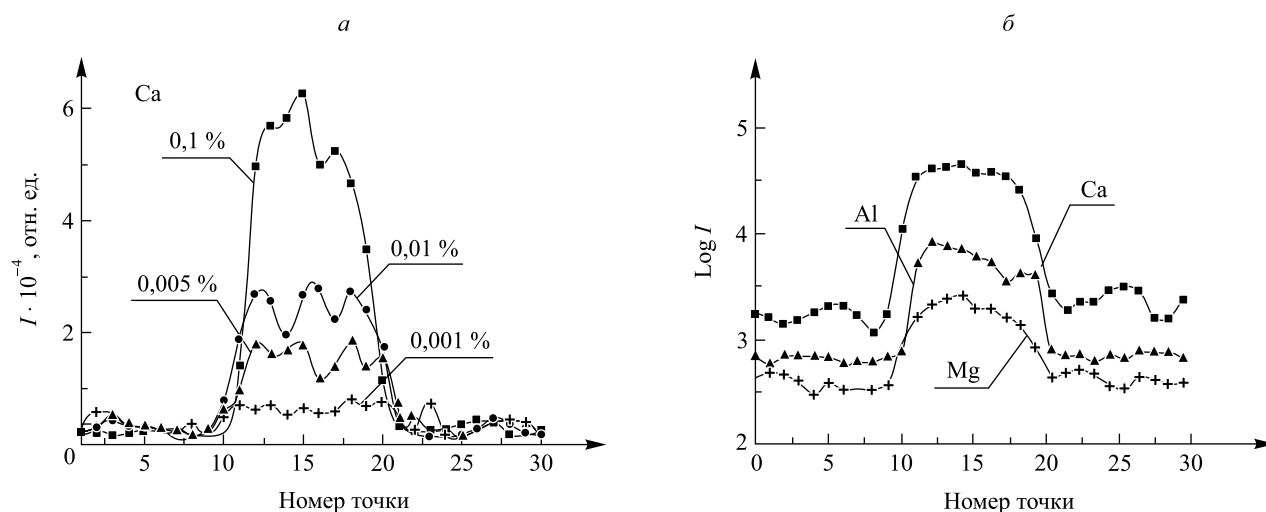


Рис. 2. Распределение интенсивностей: а – линии Ca II от концентрации (C); б – Ca, Al, Mg от положения точки ($C = 0,1\%$) по диаметру высушенных капель

Влияние осадителя на размер капли очевидно из рис. 2, а, б. Более того, показано, что уменьшение зоны распределения элементов заметно повысило чувствительность анализа и позволило определять концентрации до уровня 0,005 %. Полученные данные отчетливо показывают возможность использования предложенной методики для количественного определения общего содержания элементов в образцах минерализованных волос.

В целях разработки методик дифференциальной оценки количественного содержания химических элементов по длине волос в качестве модельных систем были использованы различные образцы нитей. На рис. 3 представлен внешний вид нитей и волос.

Было найдено, что наиболее воспроизводимые результаты получаются при использовании темной хлопчатобумажной нити № 50. Поэтому дальнейшие исследования проводили с образцами этой нити.

Для оценки влияния осадителей на распределение элементов также были опробованы гидроокиси и различные фосфаты калия и натрия. Использовались два метода нанесения образца: полное погружение нити в раствор осадителя или нанесение осадителя в центральную ее часть. Более стабильные результаты получены при предварительном погружении нити в раствор осадителя и нанесении анализируемого раствора в центр нити.

Методика подготовки образцов включает погружение нити на 10 мин в 100–200 мкл 10 % раствора ортофосфата калия. Затем нить высушивали при комнатной температуре в течение примерно 10 мин, оставляя ее на тефлоновой поверхности. Нить аккуратно расправляли и в центр наносили 10 мкл водного раствора смеси хлоридов алюминия, кальция, меди, цинка, железа и магния анализируемого

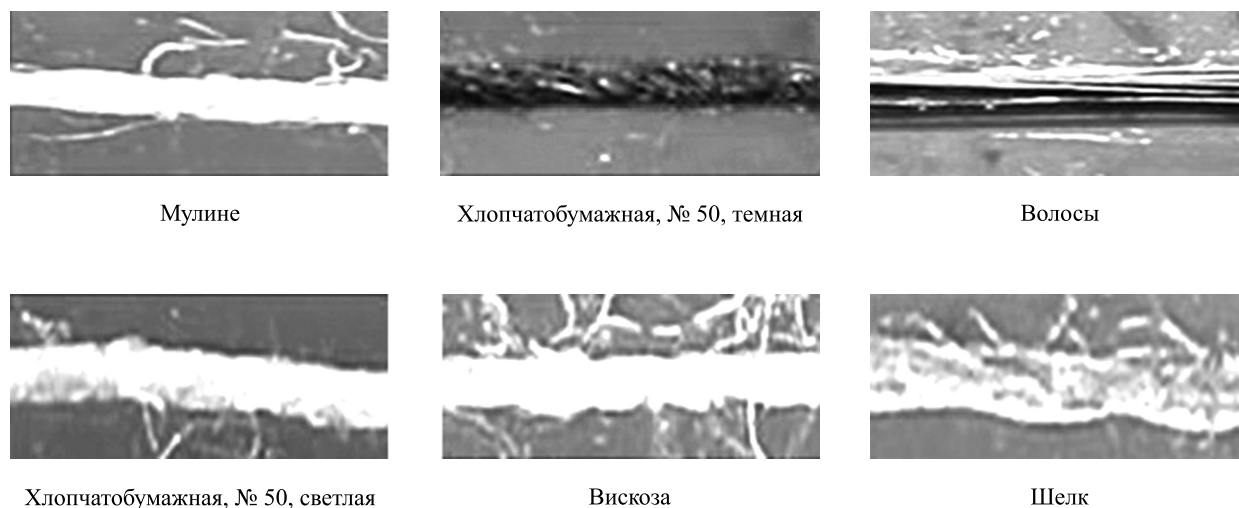


Рис. 3. Внешний вид образцов различных нитей и волос

эталона. Образцы повторно сушили на тefлоновой поверхности. Высушенный образец с помощью двустороннего скотча наклеивали на поверхность держателя образцов (пластинка из органического стекла) и покрывали слоем 1 % раствора полистирола в толуоле. Получение спектров осуществлялось с использованием вышеприведенных параметров установки через 1 мм.

Распределение элементов по длине нити при использовании ортофосфата калия в качестве осадителя приведено на рис. 4. Концентрация каждого из элементов составляет 0,33 % по всей длине нити (см. рис. 4, а), зависимость интенсивности линии кальция от концентрации представлена на рис. 4, б.

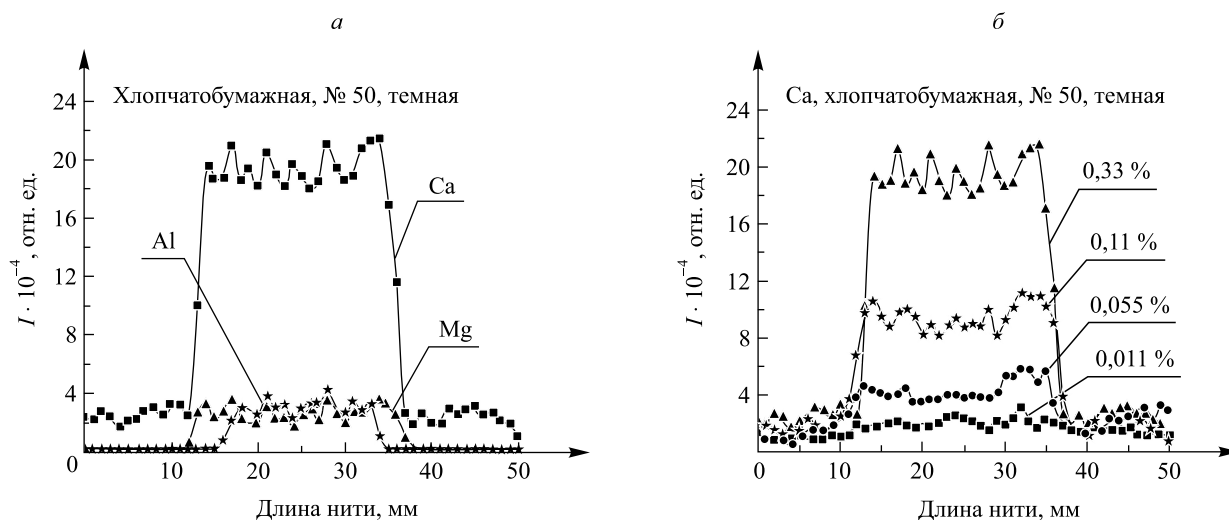


Рис. 4. Распределение элементов по длине нити при использовании ортофосфата калия в качестве осадителя: а – Ca, Al, Mg; б – зависимость интенсивности линии Са от концентрации

При использовании ортофосфата калия и внесении анализируемой пробы по центру нити область распределения сужается, концентрация макроэлементов в центральной части заметно увеличивается, существенные неравномерности интенсивности по длине нити заметно нивелируются.

Несколько меньший размер распределения алюминия, по сравнению с кальцием и магнием, обусловлен более низкой растворимостью ортофосфата алюминия по сравнению с ортофосфатами кальция и магния.

Размеры зоны распределения кальция для различных концентраций практически равны, при этом наблюдается отчетливая закономерная корреляция между интенсивностью линии и концентрацией элемента в пробе.

При проведении интегральной оценки содержания кальция, магния и алюминия в образцах минерализованных волос установлено, что лучшим осадителем является гидроксид натрия. В случае проведения ретроспективного анализа волос по их длине наиболее подходящим осадителем является ортофосфат калия.

Таким образом, использование метода осадочной хроматографии при количественном определении элементов в образцах минерализованных волос позволяет повысить чувствительность метода и добиться более равномерного распределения химических элементов по поверхности пористого тела.

Использование ортофосфата калия в качестве осадителя является перспективным направлением для разработки высокочувствительных методик ретроспективного количественного анализа не только волос, но и других твердых биологических образцов методом лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии со сдвоенными лазерными импульсами.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК (REFERENCES)

1. Дмитриева Н. В., Глазачев О. С. Электрофизиологические и информационные аспекты развития стресса // Успехи физиологических наук. 2005. Т. 36, № 4. С. 57–74 [Dmitrieva N. V., Glasachev O. S. Elektrofiziologicheskie i informatsionnye aspekty razvitiya stressa = Electrophysiological and information aspects of stress development. *Usp. fiziol. nauk*. 2005. Vol. 36, No. 4. P. 57–74 (in Russ.)].
2. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS): Fundamentals and Applications / ed. A. W. Miziolek [et al.]. Cambridge, 2006.
3. Зажогин А. П. Атомный спектральный анализ. Минск, 2005.
4. Fortes F. J. The potential of laser-induced breakdown spectrometry for real time monitoring the laser cleaning of archaeometallurgical objects // *Spectrochim. Acta B*. 2008. Vol. 63, № 10. P. 1191–1197 [Fortes F. J. The potential of laser-induced breakdown spectrometry for real time monitoring the laser cleaning of archaeometallurgical objects. *Spectrochim. Acta B*. 2008. Vol. 63, No. 10. P. 1191–1197 (in Engl.)].
5. Cremers D. A., Radziemski L. J. Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. N. Y., 2006.
6. Bogaerts A., Chen Z. Effect of laser parameters on laser ablation and laser-induced plasma formation: A numerical modeling investigation // *Spectrochim. Acta B*. 2005. Vol. 60, issue 9/10. P. 1280–1307 [Bogaerts A., Chen Z. Effect of laser parameters on laser ablation and laser-induced plasma formation: A numerical modeling investigation. *Spectrochim. Acta B*. 2005. Vol. 60, issue 9/10. P. 1280–1307 (in Engl.)].
7. Чинь Нгок Хоанг, Патапович М. П., Фам Уиен Тхи, Пашиковская И. Д., Булойчик Ж. И., Зажогин А. П. Исследование влияния гидроксидов К и Na на пространственное распределение Ca, Mg и Al в высохших каплях белка методом лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии // Вестн. БГУ. Сер. 1, Физика. Математика. Информатика. 2013. № 1. С. 29–33 [Trinh Ngok Hoang, Patapovich M. P., Pham Uyen Thi, Pashkovskaya I. D., Bulovichik J. I., Zajogin A. P. Investigation into the effect of K and Na hydroxides on the spatial distribution of Ca, Mg and Al in the dried albumin drops using the laser atomic-emission spectrometry method. *Vestnik BGU. Ser. 1, Fiz. Mat. Inform.* 2013. No. 1. P. 29–33 (in Russ.)].
8. Чинь Нгок Хоанг, Патапович М. П., Фам Уиен Тхи, Пашиковская И. Д., Булойчик Ж. И., Зажогин А. П. Исследование влияния физико-химических свойств фосфатов калия на распределение катионов Ca, Mg и Al в высохших каплях альбумина методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии // Вестн. БГУ. Сер. 1, Физика. Математика. Информатика. 2012. № 3. С. 12–15 [Trinh Ngok Hoang, Patapovich M. P., Pham Uyen Thi, Pashkovskaya I. D., Bulovichik J. I., Zajogin A. P. Investigation into the effect exerted by the physical and chemical properties of potassium phosphates on the distribution of Ca, Mg and Al cations in the dried albumin drops with the use of local laser atomic-emission spectrometry. *Vestnik BGU. Ser. 1, Fiz. Mat. Inform.* 2012. No. 3. P. 12–15 (in Russ.)].
9. Лидин Р. А., Андреева Л. Л., Молочко В. А. Константы неорганических веществ : справочник. М., 2006. С. 389.

Статья поступила в редколлегию 02.02.2016.

Received by editorial board 02.02.2016.