БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

УДК 533.9.082.5; 543.423; 621.373.826

ЧИНЬ
Нгок Хоанг

ЛАЗЕРНАЯ АТОМНО-ЭМИССИОННАЯ СПЕКТРОМЕТРИЯ ЛОКАЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ МАКРОЭЛЕМЕНТОВ В ОБРАЗЦАХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ, ВЫСОХШИХ НА ТВЕРДОЙ ПОВЕРХНОСТИ

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук
по специальности 01.04.05 - оптика

Минск, 2013

Работа выполнена в Белорусском государственном университете.

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ –

Зажогин Анатолий Павлович

доктор физико-математических наук, профессор, профессор кафедры лазерной физики и спектроскопии Белорусского государственного университета.

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

Гапоненко Сергей Васильевич

Член–корреспондент НАН Беларуси, доктор физико–математических наук, профессор, заведующий лабораторией нанооптики ГНУ «Институт физики им. Б.И. Степанова НАН Беларуси»;

Мечковский Станислав Антонович

доктор химических наук, профессор, профессор кафедры аналитической химии Белорусского государственного университета.

ОППОНИРУЮЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ –

Белорусский национальный технический университет.

Защита состоится 20 июня 2013 г. в 10.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 02.01.17 при Белорусском государственном университете по адресу: 220030 Республика Беларусь, г. Минск, ул. Ленинградская, 8, корпус юридического факультета, ауд. 407, e-mail: gulis@bsu.by; телефон ученого секретаря 209-57-09.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Белорусского государственного университета.

Автореферат разослан « 16 » мая 2013 г.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций
доктор физико-математических наук, профессор И.М. Гулис

КРАТКОЕ ВВЕДЕНИЕ

В последние годы анализ биологических объектов стал одной из основных областей применения инструментальных, в том числе и спектральных методов анализа. Такие исследования актуальны при диагностике врожденных патологий, экологически обусловленных заболеваний, профессиональных заболеваний, связанных со спецификой промышленного производства, и др.

Патологическое состояние организма тесно связано с изменениями содержания химических элементов в биологических жидкостях (БЖ). Известно огромное влияние макроэлементов (кальций, калий, натрий, магний и др.) и микроэлементов (цинк, медь, железо, алюминий и др.) на функционирование организма и состояние здоровья. В связи с этим особое значение приобретает разработка методов ранней диагностики накопления и распределения некоторых химических элементов в БЖ человека.

Относительно недавно в медицинской диагностике нашел применение метод клиновидной дегидратации. Метод позволяет на основании визуального анализа структур, образовавшихся при высыхании капли БЖ, выявлять различные заболевания человека на доклинической стадии. Исследования ведутся по качественным особенностям на феноменологическом уровне. Хотя проблема и требует более глубокого изучения, выявленные эмпирические закономерности активно используются в медицинской практике.

Лазерная атомно-эмиссионная спектрометрия (ЛАЭС) обладает целым рядом достоинств – локальность повреждения поверхности, малые количества необходимого для анализа вещества, слабая зависимость процесса абляции от физико-химических свойств образца, возможность одновременного определения большого количества элементов. Существенное увеличение аналитического сигнала при использовании сдвоенных лазерных импульсов (СЛИ) по сравнению с одиночными импульсами позволит значительно расширить пределы применения ЛАЭС в медицинской практике, как для оценки общего содержания, так и локального пространственного распределения жизненно необходимых элементов в высохшей капле БЖ.

Актуальность диссертационной работы обусловлена необходимостью в разработке новых методик количественной оценки не только общего содержания, но и локального пространственного распределения жизненно необходимых элементов в высохшей капле БЖ методом локальной атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии. Результаты таких оценок могли бы служить основой при проведении диагностических исследований, поскольку на начальных стадиях развития болезни общее содержание макроэлементов в БЖ пациентов, как правило, лежит в пределах нормы.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Диссертационная работа выполнялась в соответствии с заданиями, входящими в следующие программы и проекты:

ГКПНИ «Электроника и фотоника»; тема 508/03 «Разработка лазерных атомно-эмиссионных спектроскопических методов экспресс-анализа биологических материалов на основе многоканальных спектрометров»; 01.01.11 – 31.12.13 гг.; Номер госрегистрации №20114355.

ГПНИ «Конвергенция» 3.3.02.3. Тема 530/04. «Разработка методов диагностики и оценки эффективности лечения опухолевых заболеваний центральной нервной системы методом определения элементного состава высохшей на поверхности капли крови и спинномозговой жидкости с помощью лазерной спектрометрии»; 01.01.11 – 31.12.15 гг.; Номер госрегистрации №20114362.

Цель и задачи исследования

Целью настоящей работы является разработка новых методик количественной определения локального пространственного распределения и общего содержания эссенциальных элементов Ca, Mg и Al в высохших каплях БЖ и выявления особенностей агрегирования молекул белков с макроэлементами для нормы и патологии с целью поиска маркеров заболеваний.

Для выполнения поставленной цели в диссертационной работе были сформулированы и решены следующие задачи:

1. Исследование зависимости интенсивности линий элементов в спектрах высохших на пористой подложке каплях водных растворов альбумина от физико-химических свойств солей.
2. Исследование влияния физико-химических свойств солей на размеры высушенных на пористой подложке каплях водных растворов белков с макроэлементами и оценка возможности целенаправленно управлять размерами высохшей капли.
3. Разработка методик и стандартных образцов для оценки общего содержания макроэлементов в высушенных каплях БЖ.
4. Разработка методик и стандартных образцов для определения локального пространственного распределения содержания макроэлементов в высушенных каплях БЖ.

Объектом исследования являлись БЖ (кровь, плазма крови, спинномозговая жидкость, растворы белков). Выбор объектов исследования обусловлен тем, что патологическое состояние организма тесно связано с

изменением содержания химических элементов в БЖ, органах и тканях, приводящим к отклонениям в обменных процессах и нейрофизиологических функциях, нарушениям внутриклеточных и системных механизмов адаптации.

Предмет исследования: процессы, протекающие на поверхности и в объеме высыхающей на капли БЖ и влияние их на интенсивность спектральных линий при воздействии на образцы сдвоенными лазерными импульсами; использование ЛАЭС для полуколичественной и количественной оценки пространственного распределения макроэлементов в высохшей капле. Выбор предмета исследования обусловлен рядом преимуществ ЛАЭС по сравнению со стандартными методами спектрального анализа. Возможно, в дальнейшем это поможет проводить диагностику, особенно на начальных стадиях развития болезни, когда стандартные лабораторные анализы, такие, как общее содержание макроэлементов в БЖ, чаще всего остаются в пределах нормы.

Положения, выносимые на защиту

1. Переход от одноимпульсной к двухимпульсной лазерной абляции капель биологических растворов, высушенных на гладкой или пористой поверхности, при неизменной энергии и мощности излучения приводит к многократному (порядка до 10) увеличению интенсивности спектральных линий кальция, магния, алюминия.

2. Двухимпульсная ЛАЭС является предпочтительным методом количественного анализа высохших капель БЖ, так как позволяет одновременно определять локальные пикограммовые концентрации макро- и микроэлементов (Ca, Mg и Al) при регистрации спектров в атмосфере воздуха. Наличие белков в составе БЖ (кровь, плазма, яичный белок и т.д.) приводит к повышению концентрации макроэлементов на периферии капли при высыхании.

3. Предварительное нанесение на пористую подложку альбумина и осадителей фосфатов калия (натрия) существенно уменьшает скорость движения катионов к периферии при высыхании капли БЖ и размер капли, а также в несколько раз повышает интенсивность линий и чувствительность анализа. Установленная линейная корреляционная зависимость между диаметром капли, типом фосфата калия, порядком последовательного нанесения растворов на фильтр и растворимостью, образующихся фосфатов кальция, позволяет разработать методики и стандартные образцы (СО) для оценки локального и общего содержания эссенциальных элементов в высушенных каплях БЖ.

4. Разработанные методики и СО позволяют провести оценки локального пространственного распределения и общего содержания

эссенциальных элементов в высушенных каплях БЖ пациентов методом двухимпульсной ЛАЭС. Обнаруженные существенные различия в пространственном распределении концентраций макроэлементов в высушенных каплях БЖ для здоровых людей и лиц с патологическими отклонениями могут послужить основой для разработки новых диагностических методов.

Личный вклад соискателя

Содержание диссертационной работы отражает личный вклад соискателя в проведение экспериментальных и теоретических исследований, анализ и интерпретацию полученных результатов. Основные результаты, приведенные в диссертационной работе, получены автором самостоятельно.

Научным руководителем А.П. Зажогиным была сформулирована тема диссертационной работы, осуществлена постановка задач, обоснован выбор объектов изучения, оказана помощь при анализе и интерпретации полученных результатов.

Доктором медицинских наук, профессором, зав. отделом РНПЦ неврологии и нейрохирургии Н.И. Нечипуренко, кандидатом медицинских наук, доцентом, директором РНПЦ неврологии и нейрохирургии А.Л. Таниным – ведущими специалистами РБ в области заболеваний центральной нервной системы, обозначены и сформулированы нерешаемые традиционными методами проблемы диагностики заболеваний ЦНС.

Соавторы основных работ: к.х.н., с.н.с Ж.И. Булойчик оказывала помощь в освоении методов приготовления модельных растворов БЖ, содержащих соли различных металлов; к.б.н., с.н.с. РНПЦ неврологии и нейрохирургии И.Д. Пашковская осуществляла подготовку образцов БЖ пациентов с заболеваниями центральной нервной системы. Ряд работ опубликован совместно с аспиранткой М.П. Патапович (объекты исследований – твердые субстраты человека), студентками Фам Уиен Тхи, Лэ Тхи Ким Ань.

Апробация результатов диссертации

Результаты диссертационной работы были представлены на следующих научных конференциях: III Конгрессе физиков Беларуси (Минск, 2011); IX Международной конференции «Взаимодействие излучений с твердым телом» (Минск, 2011); V Международной научной конференции «Актуальные проблемы физики твердого тела – ФТТ-2011» (Минск, 2011); III Международной научной конференции «Проблемы взаимодействия излучения с веществом» (Гомель, 2011); Республиканской научной конференции студентов и аспирантов Республики Беларусь «НИРС-2011» (Минск, 2011); XX и XXI Республиканских научных конференциях аспирантов, магистрантов и

студентов «Физике конденсированного состояния» (Гродно, 2012, 2013); 6th International conference on chemistry and chemical education “Sviridov Readings 2012” (Minsk, 2012); II Республиканской научной конференции по аналитической химии с международным участием «Аналитика РБ-2012» (Минск, 2012); IX Международной научной конференции «Лазерная физика и оптические технологии» (Гродно, 2012); Международной научной конференции "Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем" (Минск, 2012); IV Съезде биофизиков России. Симпозиум IV “Новые тенденции и методы в биофизике” (Нижний Новгород, 2012); Международной научной конференции «Россия-Беларусь-Сколково: Единое инновационное пространство» (Минск, 2012); II Международной конференции DROPS-2012 «Процессы самоорганизации в высыхающих каплях многокомпонентных жидкостей: эксперименты, теории, приложения» (Астрахань, 2012); VII Международной научно-технической конференции «МЕДЭЛЕКТРОНИКА – 2012» (Минск, 2012); II Международной научно–практической конференции, посвященной 110-летию со дня рождения академика А.Н. Севченко “Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния” (Минск, 2013).

Опубликованность результатов диссертации

Результаты диссертации опубликованы в 34 работах, в числе которых 5 статей в научных журналах в соответствии с пунктом 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (общим объемом 2,17 авторских листа), 15 статей в сборниках материалов научных конференций, 4 статьи в сборниках научных трудов, 10 тезисов докладов.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из перечня условных обозначений, введения, общей характеристики работы, пяти глав, заключения, библиографического списка. Полный объем диссертации составляет 129 страниц; работа содержит 60 рисунков на 28 страницах; 9 таблиц на 3 страницах. Библиографический список состоит из 161 наименования, включая собственные публикации автора (на 16 страницах).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ

В **главе 1** представлен обзор литературных данных о физико-химических свойствах БЖ: крови, плазмы крови, спинномозговой жидкости. Рассмотрены основы физических процессов, наблюдаемых при дегидратации БЖ. Отдельное внимание уделено рассмотрению процессов самоорганизации высыхающих

капель. Приведены данные о свойствах и количественному содержанию основных эссенциальных (жизненно необходимых) элементов в различных БЖ. Подчеркнуто, что нарушение баланса макро-микроэлементов в организме человека может явиться причиной и стартовым механизмом возникновения многих заболеваний.

Как правило, дисбаланс химических элементов в организме взрослых и детей включает недостаточное содержание ряда эссенциальных микро- и макроэлементов (Zn, Cu, Fe, Ca, Mg, и др.) и одновременно избыточное накопление ряда токсичных металлов (Al, Cd, Be и др.).

При высыхании БЖ в процессе дегидратации происходит проявление радиальных областей (зон фации). При этом изменение текстуры прослеживается от центра фации к ее краям. Их количество определяется как типом БЖ (сыворотка крови, перитонеальная жидкость, спинномозговая жидкость), так и характером патологического процесса. Методы оценки твердой фазы БЖ нашли достаточное широкое применение в клинической медицине, гигиенических исследованиях.

В настоящее время наиболее широко используемым в медицинских исследованиях является метод клиновидной дегидратации. В работах изучены особенности структуризации БЖ практически здоровых людей и лиц с патологией. Несмотря на ряд вопросов, связанных с обоснованием механизмов и принципов структурообразования твердой фазы, метод позволяет выявлять различные заболевания человека на доклинической стадии. Однако исследование динамики патологического процесса ведется микроскопией по косвенным текстурным особенностям изображения фации, а существующие универсальные программные системы медико-биологического анализа в основном ориентированы на исследование однотонных объектов (не текстурных). Поверхность фации имеет неравномерную толщину, поэтому фокусное расстояние микроскопа нельзя настроить так, чтобы все изображение находилось в зоне резкости. Таким образом, наблюдая поверхность капли, можно делать определенные выводы о составе исследуемого объекта.

Другие существующие методики, как правило, носят описательный характер. Они субъективны, малопригодны для последующего анализа с использованием высокотехнологичных и информативных методов исследований. Значительная доля исследований ведется на феноменологическом уровне. Развитию применения морфологии твердой фазы БЖ в медицине тормозит обилие авторских методик, зачастую не имеющих принципиальных различий, а предлагающих собственные алгоритмы анализа результатов.

Нам казалось целесообразным использовать метод локальной лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии для исследования

изменений в белковых центрах, изучения пространственного распределения макроэлементов в высохших каплях БЖ, выявления закономерностей их распределения для здоровых людей и лиц с патологическими отклонениями.

В **главе 2** приводится подробное описание экспериментальной установки на базе лазерного спектрометра LSS-1. Отдельное внимание уделено оптической схеме спектрометра и входящих в его состав полихроматоров SDH-1, системе фотоэлектрической регистрации и сервисным функциям прибора. Спектрометр LSS-1 позволяет использовать для абляции вещества и возбуждения спектров как одиночные (ОЛИ), так и сдвоенные (СЛИ) лазерные импульсы, сдвинутые во времени друг относительно друга, что существенно расширяет аналитические возможности прибора.

Рассмотрены вопросы взаимодействия лазерного излучения с поверхностью твердых тел, сопровождающегося нагреванием, плавлением, испарением и взрывным вскипанием вещества. Оценена зависимость процессов формирования абляционной плазмы и ее последующей эволюции от параметров лазерных импульсов. Кратко рассмотрены оптические характеристики и вопросы взаимодействия лазерного излучения с прозрачными твердыми полимерами из БЖ. Детально рассмотрены методические основы лазерного атомно-эмиссионного анализа. Изучена зависимость интенсивности линий в спектрах приповерхностной лазерной плазмы от энергии импульсов, интервала между импульсами, количества последовательных импульсов в серии, физико-химических свойств анализируемых солей, входящих в состав растворов. Определены оптимальные параметры сдвоенных импульсов, обеспечивающих максимальную интенсивность сигнала.

Показана актуальность проведения исследований на модельных БЖ простого состава, что позволяет свести к минимуму количество существенных факторов, влияющих на структурообразование, а также проводить контролируемое изменение параметров жидкости.

В качестве модельной среды, максимально приближенной к реальным объектам исследований, выбран яичный альбумин. Отработаны методики получения белков (альбуминов).

Изучено влияние поверхности твердой подложки на размер и качество высыхающей капли БЖ. Для оценки возможности использования в качестве подложки исследованы различные полимерные структуры: полиметилметакрилат (ПММА), полиэтиленовые и полистирольные пленки-скотчи (с точки зрения смачивания поверхности растворами белков и адгезии к поверхности высохшей капли БЖ). В настоящей работе использовали в качестве подложки ПММА толщиной 2 мм. Такая подложка обладает достаточно гладкой поверхностью, остается жесткой при нагревании до 60÷70 ^{0}C и имеет хорошую адгезионную способностью к БЖ. Использование в

качестве подложки предметных неорганических стекол, используемых в микроскопии, в данном случае невозможно, так как они содержат исследуемые элементы

Глава 3 содержит результаты спектральных исследований пространственного распределения эссенциальных элементов Ca, Mg и Al в высохших на гладкой (ПММА) и пористой (беззольный фильтр, черная лента) поверхностях подложек каплях БЖ (кровь, плазма крови, яичный белок). Подобраны режимы воздействия сдвоенных лазерных импульсов на поверхность образцов для изучения динамики развития процессов абляции и пространственного распределения основных эссенциальных элементов (кальция и магния) и алюминия по диаметру высохшей капли БЖ методом ЛАЭС. Динамику развития процессов абляции и пространственного распределения кальция, алюминия и магния по диаметру высыхшей капли БЖ исследовали при воздействии сдвоенных лазерных импульсов на поверхность образцов при энергии излучения 58 и 42 мДж (первый и второй импульсы соответственно) и временном интервале между сдвоенными импульсами 8 мкс.

Для решения задачи оценки локального содержания элементов в различных точках высохшей капли БЖ методами лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии необходимо иметь в наличии СО, адекватные реальным образцам. Определены критерии выбора СО. Методы приготовления СО для различных групп биологических образцов (твердых – волосы, ногти; жидких – кровь, плазма, спинномозговая жидкость и т.д.) различны, но во всех случаях идеальные стандарты должны отличаться от проб только содержанием определяемых элементов. Для спектрального анализа СО должны быть адекватны как по химическому составу, так и по физическим свойствам. В нашем случае соответствием физическим свойствам нужно считать равенство диаметра высохших капель образца и стандарта при одинаковых первоначальных объемах жидкостей.

Разработаны методики приготовления экспериментальных образцов и нанесения их на подложку. Измерены средние значения диаметра и толщины высохшей на твердой подложке капель крови, плазмы и стандартного раствора альбумина; определен критерий соответствия. За критерий соответствия взято равенство диаметров высохших капель анализируемого и стандартного образцов (≈ 6 мм) при нанесении одинаковых первоначальных объемов БЖ (10 мкл). Для оценки структурных дефектов и выбора направления проведения абляции сделаны и сравнены фотографии высохших капель крови и плазмы крови больного до и после операции.

Изучено пространственное распределение кальция, магния и алюминия в высохших каплях крови и плазмы больного до и после операции, выявлены определенные закономерности между интенсивностью линий кальция, магния,

аллюминия и местом анализируемой точки (рисунок 1). Расстояние между анализируемыми точками примерно равно 0,6 мм. При меньшем расстоянии быстро нарушается целостность высушенной пленки белка.

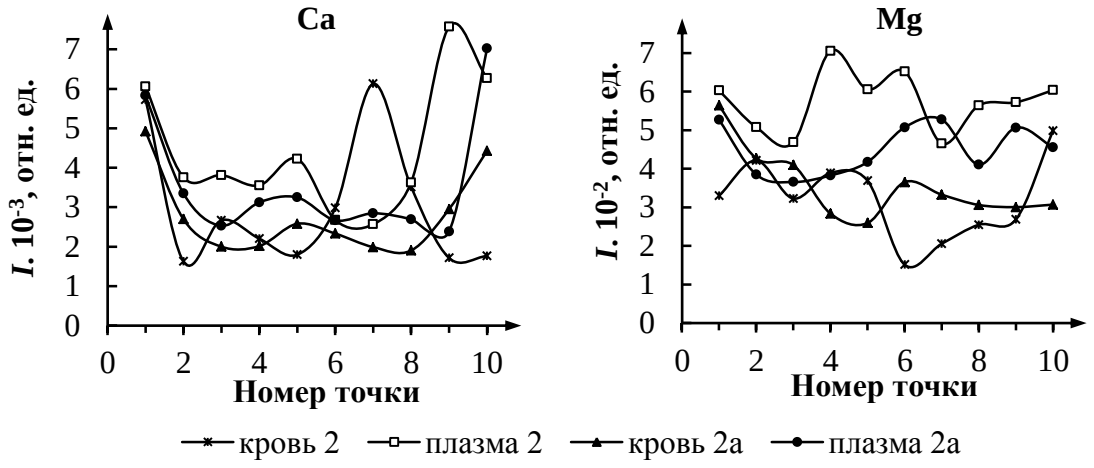

Рисунок 1 – Интенсивность линий Ca II (393,366 нм), Mg I (383,829 нм) в атомно-эмиссионных спектрах крови и плазмы крови

Кальций в основном распределен по краям, а магний преимущественно в тех областях, где концентрация кальция меньше. Обращает на себя внимание резкое возрастание концентрации кальция в точках 6÷8 в образцах крови и точке 9 плазмы крови до операции. Одновременно в этих же точках концентрация магния резко падает. После операции кривые становятся более гладкими, без больших выбросов.

Эти предварительные опыты позволяют считать одним из критериев проявления заболевания нарушение соотношения кальций-магний и других макроэлементов у больного и практически здорового человека. Пространственные распределения макроэлементов в модельных средах хорошо согласуются с результатами для реальных образцов крови и плазмы. Таким образом, выбранные модельные системы можно использовать для разработки методик полуколичественного и количественного определения содержания элементов в отдельных точках высохшей капли.

Исследована зависимость интенсивности линий и пространственного распределения элементов в высушенной на пористой подложке капли водного раствора альбумина от концентрации солей, температуры сушки растворов, добавок органических сорастворителей (ацетона и этилового спирта). Обсужден механизм перераспределения макроэлементов и белков. Показано, что при конкуренции различных механизмов капиллярного движения, увеличение температуры сушки приводит к увеличению размера пятна распределения кальция и магния. Ацетон вследствие более быстрого испарения из смеси с водой наиболее заметно уменьшает размер пятна. Но все же размеры модели значительно превышают размеры реальных высохших капель БЖ.

В **главе 4** приводятся результаты использования осадочной хроматографии для ограничения миграции макроэлементов и уменьшения размеров их пространственного распределения в высохших на пористой поверхности каплях БЖ (кровь, плазма крови, яичный белок). Целью исследований являлось уменьшение размеров высохшей капли и улучшение равномерности распределения катионов по ее поверхности. Это приближает разработку СО, наиболее адекватных реальным образцам БЖ человека, и может способствовать проведению полуколичественной и количественной оценки локального пространственного распределения макроэлементов в высохшей капле.

В качестве осадителей для хлоридов кальция, магния и алюминия использовали гидроксиды калия и натрия (10%-ный водный раствор), поскольку гидроксиды кальция, магния и алюминия обладают ограниченной растворимостью, что вполне удовлетворяет требованиям осадочной хроматографии. Так, например, произведение растворимости (ПР) для $Ca(OH)_2$ ($6{,}3.10^{-6}$), $Mg(OH)_2$ ($6{,}8.10^{-12}$) и $Al(OH)_3$ ($5{,}7.10^{-32}$). Варианты приготовления образцов включают различную последовательность нанесения осадителя, смеси анализируемых солей и альбумина на пористую поверхность беззольного бумажного фильтра (черная лента). Определение элементов проводили по диаметру капли в 30 точках примерно через каждые 0,6 мм. Найдено, что на размер пятна более эффективно влияет гидроокись натрия. При использовании осадителей – гидроксидов концентрация макроэлементов в центральной части капли начинает заметно увеличиваться. Влияние гидроокисей калия и натрия на размер пятна для смеси солей более существенно, чем для однокомпонентных солей. По-видимому, это можно объяснить смещением химического равновесия в сторону образования геля гидроокиси алюминия, что способствует захвату более тяжелых катионов магния и кальция при высыхании капли, в то время как катионы калия и натрия продолжают диффундировать на периферию капли. Установлено, что минимальный размер капли достигается при нанесении слоев в следующем порядке: альбумин, гидроксид калия или натрия, смесь хлоридов солей. При использования гидроксида натрия размер капли равен примерно 4,8 мм, а гидроксида калия – 5,4 мм, что значительно меньше реального размера высушенной капли БЖ (≈ 6мм).

В качестве осадителей хлоридов кальция, магния и алюминия нами изучена возможность использования моно-, ди- и ортофосфатов натрия и калия, поскольку фосфаты анализируемых металлов также обладают ограниченной растворимостью. Растворимость фосфатов в воде резко падает с увеличением числа замещенных металлом атомов водорода, например, для солей кальция: $Ca(H_2PO_4)_2$ – 1,5г/100г H_2O; $CaHPO_4$ – 0,02 г/100г H_2O и $Ca_3(PO_4)_2$ – 8.10^{-4} г/100г

H_2O. Трехзамещенные фосфаты многовалентных металлов практически не растворимы.

Изучено распределение элементов в каплях БЖ в зависимости от типа использованного фосфата при различной последовательности нанесения слоев. Установлено, что размер высушенной капли, содержащей кальций, магний, алюминий пропорционален растворимости соответствующего фосфата и существенно зависит от порядка нанесения растворов. При введении фосфатов концентрация макроэлементов в центральной части заметно увеличивается. Наилучшими осадителями являются ортофосфаты. Наименьшие размеры капель получены для образца, где в качестве осадителя использован ортофосфат калия, а при нанесении слоев в первую очередь нанесен раствор альбумина.

На рисунке 2 приведены графики зависимости диаметра капли от растворимости образующихся фосфатов кальция для различных вариантов нанесения растворов.

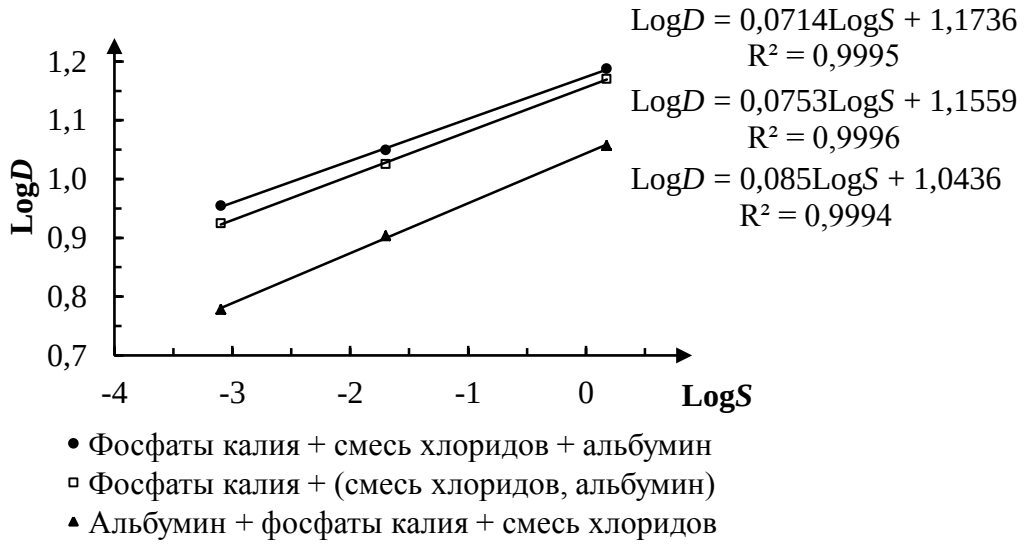

Рисунок 2 – Зависимости диаметра капли *D* от растворимости *S* фосфатов кальция для различных порядков нанесения растворов

Приведенные графики демонстрируют хорошую корреляционную зависимость между диаметром капли, типом фосфата калия, порядком нанесения растворов на фильтр и растворимостью образующихся фосфатов кальция. Диаметр пятна тем больше, чем больше растворимость соответствующего фосфата.

Аналогичные зависимости можно ожидать и для алюминия и магния, основываясь на данных по растворимости ортофосфатов алюминия ($8{,}06.10^{-9}$ г/100г H_2O) и магния ($6{,}4.10^{-4}$ г/100г H_2O). Их растворимость близка и даже меньше, чем для соответствующего фосфата кальция.

Проведено сравнение зон распределения кальция в модельных образцах и в высохших на пористой поверхности каплях крови и плазмы без осадителей и при использовании ортофосфата калия в качестве осадителя. Показано, что использование осадителя резко уменьшает размер зоны распределения кальция в образцах реальной БЖ от 16 до 6÷7 мм, что соразмерно с размером зоны модельного образца.

Полученные результаты могут дать дополнительные возможности прикладного использования локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии для анализа высушенных БЖ. Обнаруженные нарушения в пространственном распределении макро- и микроэлементов по сравнению со стандартом является основой перспективности использования данных исследований для разработки методик полуколичественного и количественного анализа содержания элементов в высохших каплях БЖ. Это может служить реальным инструментом в диагностике различных заболеваний.

Глава 5 посвящена разработке методик полуколичественного и количественного анализа элементного состава БЖ.

С учетом физических механизмов формирования высохших капель БЖ на гладких и пористых подложках и характеристик эмиссионных спектров приповерхностной лазерной плазмы разработаны методики количественного анализа пространственного содержания Ca, Mg и Al в высохших каплях БЖ.

Использованы разработанные нами стандартные условия проведения эксперимента. Динамику развития процессов абляции и приповерхностного плазмообразования оценивали при воздействии сдвоенных лазерных импульсов на поверхность образца. Анализировали суммарные результаты действия 10 последовательных сдвоенных лазерных импульсов в каждой точке. Энергии импульсов излучения – 58 и 42 мДж (первый и второй импульсы соответственно), временной интервал между сдвоенными импульсами – 8 мкс. Размер точки составляет порядка 0,10÷0,15 мм. По диаметру пробы анализ проводили в 10 точках для образцов капель высушенных на гладкой поверхности, и 30 – на пористой. Абляция вещества осуществлялась через 0,6 мм.

Изучено распределение кальция, магния и алюминия при нанесении водных растворов альбумина и хлоридов Ca, Mg и Al с концентрациями 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08 и 0,16 % по металлам на пористую подложку. Во всех случаях готовили по три образца одинаковой концентрации. Полученные значения интенсивностей линий усредняли.

Приведены методики приготовления СО, в которых при использовании K_3PO_4 в качестве осадителя катионы кальция, магния, алюминия распределены в зоне по диаметру равном примерно 6÷7 мм.

Установлено, что кривая роста в обычных координатах (I, C) имеет форму степенной функции, соответствующей эмпирическому уравнению Ломакина – Шайбе:

$$I = aC^b$$

В то же время эта зависимость линейна в логарифмических координатах. Графики уравнений, полученных методом наименьших квадратов, для всех элементов имеют линейный вид с коэффициентом корреляции близким к единице ($R^2 = 0,99$).

При сравнении интенсивности линий элементов в спектрах образцов БЖ высушенных на пористой и гладкой поверхностях было установлено, что интенсивность линий для образцов на пористой подложке в несколько раз выше, чем для образцов на гладкой поверхности при одной и той же концентрации элементов. Установленное различие может быть объяснено тем, что кровь и плазма крови, высохшие на гладкой твердой подложке, по сути представляют собой твердый белковый полимер, поглощающий в области 250÷350 нм. В области 1,064 мкм поглощение всех белков, в том числе БЖ, очень мало, поэтому воздействие лазерного излучения на прозрачный полимер будет определяться преимущественно взаимодействием его с поглощающими включениями (солями металлов, структурными дефектами белков и т.д.), что имеет место в нашем случае. Большое количество экспериментальных фактов, приведенных в литературе, подтверждают доминирующую роль поглощающих включений в процессах лазерного разрушения прозрачных твердых тел. Наиболее яркими из них являются: вариации порогов разрушения в образцах из одного и того же материала, полученных по одинаковой технологии; рост порога разрушения материала по мере его очистки; статистические закономерности лазерного разрушения (вариации порога разрушения по объему одного и того же образца, размерная зависимость порога разрушения и др.).

Более высокая эффективность возбуждения спектров при воздействии сдвоенных лазерных импульсов на пористое тело объясняется тем, что при многократном рассеяния света внутри пор коэффициент поглощения света сильно увеличивается.

Теоретически рассчитать и оценить величину коэффициента связи между интенсивностями линий в спектрах таких различающихся по оптическим характеристикам систем вряд ли возможно. Применяемые методы анализа результатов, как правило, основаны на эвристических соображениях априорного характера, не имеющих под собой надежной теоретической основы, что приводит к необоснованному толкованию результатов экспериментального исследования и неверным выводам относительно механизма абляции.

В связи с этим для нахождения эмпирического коэффициента связи между интенсивностями линий элементов на двух разных подложках нами

проведено сравнение результатов, полученных для образцов растворов альбумина с различными концентрациями хлоридов металлов, высушенных на подложке из ПММА и на пористой подложке.

При создании СО на гладкой подложке для построения градуировочных графиков с целью определения содержания в образцах Са были использованы растворы, аналогичные вышеприведенным. Растворы наносились на подложку из ПММА. Процесс сушки проходил при температуре 20÷25 ^{0}С и относительной влажности воздуха 60÷65 % в течение примерно 20÷24 часов. Брали средние результаты измерений трех образцов.

Разработанные СО наиболее близки по физическим и химическим характеристикам к реальным. Главным недостатком при изготовлении СО на гладкой поверхности является ухудшение качества адгезии белка к подложке при большой концентрации соли. Иногда наблюдается разрушение целостности пленки в зоне абляции, и результаты получаются не всегда корректными.

В результате сравнения соответствующих интенсивностей для одинаковых концентраций элементов на двух разных подложках получено, что для коррекции результатов по интенсивностям можно использовать коэффициент равный 3.

С использованием полученных градуировочных зависимостей для СО на пористой поверхности были рассчитаны концентрации как общего, так и локального распределения кальция в различных точках образцов крови и плазмы людей с заболеванием центральной нервной системы (ЦНС) до и после операции. Сделаны оценки общего содержания кальция в образцах крови и плазмы исследуемых пациентов. Построены графики содержания кальция в образцах в сравнении с нормой (0,0094 %).

На рисунке 3 приведены рассчитанные концентрации кальция в отдельных точках по диаметру капли образцов крови больных до (№1, №2, №3) и после операции (№2а, №4а).

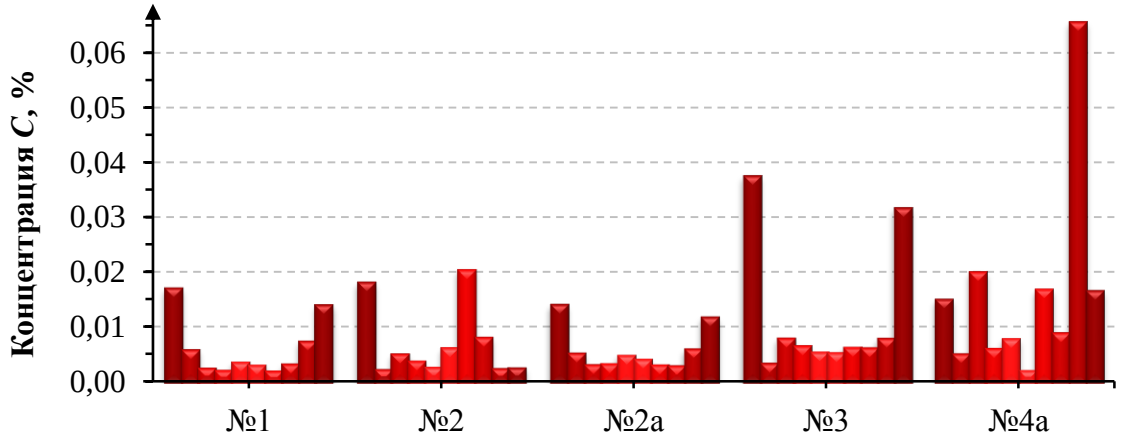

Рисунок 3 – Локальное содержание кальция в высохших каплях крови, определенное методом локальной ЛАЭС

При сравнении данных очевидно, что после операции у больного (№2а) содержание кальция заметно падает и приближаетя к норме (№1). В то же время наблюдается значительное увеличение концентрации кальция в отдельной промежуточной точке у больного №4а, что может свидетельствовать о какой-то патологии.

Для оценки общей картины распределения кальция, магния и алюминия разработаны методики проведения экспериментов по всей площади образца, путем разбиения его на 10x10 или 14x14 точек.

Таким образом, двухимпульсная ЛАЭС является предпочтительным методом количественного анализа высохших капель БЖ, так как позволяет одновременно определять локальные пикограммовые концентрации макро- и микроэлементов (Ca, Mg и Al) при регистрации спектров в атмосфере воздуха.

Обнаруженные существенные различия в пространственном распределении концентраций макроэлементов в высушенных каплях БЖ здоровых людей и лиц с патологическими отклонениями могут послужить основой для разработки новых диагностических методов. Разработанные методики для количественной оценки изменений в пространственном распределении макроэлементов позволят существенно снизить степень субъективизма при исследовании твердой фазы БЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Переход от одноимпульсной к двухимпульсной лазерной абляции капель биологических растворов высушенных на гладкой и пористой поверхности при неизменной энергии и мощности излучения приводит к многократному (порядка до 10) увеличению интенсивности спектральных линий элементов [1, 2, 10, 11, 13, 21].

2. Двухимпульсная ЛАЭС является предпочтительным методом количественного анализа высохших капель БЖ, так как позволяет одновременно определять локальные пикограммовые концентрации макро- и микроэлементов (Ca, Mg и Al) при регистрации спектров в атмосфере воздуха. Впервые экспериментально показано, что максимальная концентрация макроэлементов при высыхании капли БЖ (кровь, плазма, яичный белок и т.д.) наблюдается на периферии капли. Одним из признаков заболевания могут являться нарушения в пространственном распределении концентраций макроэлементов [3, 5, 6, 8, 9, 12, 16, 17, 25, 27, 28].

3. Предварительное нанесение на пористую подложку альбумина и фосфатов калия (натрия) существенно уменьшает скорость движения катионов к периферии при высыхании капли БЖ и размер капли. Установленная

линейная корреляционная зависимость между диаметром капли, типом фосфата калия, порядком нанесения растворов на фильтр и растворимостью образующихся фосфатов макроэлементов позволяет разработать методики и СО для оценки локального и общего содержания макроэлементов в высушенных каплях БЖ [4, 14, 19, 21, 22, 29, 32, 33, 34].

4. Разработанные методики и СО позволяют провести оценки локального пространственного и общего содержания макроэлементов в высушенных каплях БЖ пациентов методом двухимпульсной ЛАЭС [3, 9].

5. Разработанные методики для количественной оценки изменений в пространственном распределении макроэлементов позволят существенно снизить степень субъективизма при исследовании твердой фазы БЖ [3, 9, 19].

Рекомендации по практическому использованию результатов

В ходе проведения исследований в рамках диссертационной работы были получены следующие практические результаты:

- Максимальная концентрация макроэлементов при высыхании капли БЖ (кровь, плазма, яичный белок и т.д.) наблюдается на периферии капли. Одним из признаков заболевания могут являться нарушения в пространственном распределении концентраций макроэлементов.
- Установленная линейная корреляционная зависимость между диаметром капли, типом фосфата калия, порядком нанесения растворов на фильтр и растворимостью образующихся фосфатов макроэлементов позволяет разработать методики и СО для оценки локального и общего содержания макроэлементов в высушенных каплях БЖ.
- Разработанные методики и СО позволяют провести оценки локального пространственного и общего содержания макроэлементов в высушенных каплях БЖ пациентов с помощью методов двухимпульсной ЛАЭС. Полученные результаты позволят снизить субъективную составляющую при анализе твердой фазы БЖ и ускорить процесс измерения при проведении диагностических исследований пациентов.
- Разработанные методики позволяют провести оценку локального пространственного изменения содержания макроэлементов в высушенных каплях БЖ пациентов до и после операции и на основании анализа кривых распределения судить о качестве проведенной операции.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных журналах

1. Исследование влияния физико-химических свойств солей алюминия, введенных в пористые тела, на интенсивность его линий в спектрах при воздействии сдвоенных лазерных импульсов на пробу / М.П. Патапович, Чинь Нгок Хоанг, Ж.И. Булойчик, А.П. Зажогин // Вестн. Бел. гос. ун-та, Сер. 1. – 2011. – № 1. – С. 17–21.
2. Фадаиян, А.Р. Процессы образования многозарядных ионов алюминия и радикалов AlO в приповерхностной лазерной плазме при воздействии на алюминиевые сплавы сдвоенными лазерными импульсами / А.Р. Фадаиян, Чинь Нгок Хоанг, А.П. Зажогин // Вестн. Бел. гос. ун–а, Сер. 1. – 2011. – № 2. – С. 27–32.
3. Исследование пространственного распределения Al, Ca, Mg, Zn, в высушенных каплях белков с помощью лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, А.П. Зажогин // Вестн. Бел. гос. ун-та, Сер. 1. – 2012. – № 1. – С. 31–34.
4. Влияние физико-химических свойств фосфатов калия на распределение катионов Ca, Mg и Al в высохших каплях альбумина методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, М.П. Патапович, Фам Уиен Тхи, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, А.П. Зажогин // Вестн. Бел. гос. ун-та, Сер. 1. – 2012. – № 3. – С. 12–15.
5. Влияние гидроксидов K и Na на пространственное распределение Ca, Mg и Al в высохших каплях белка методом лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, М.П. Патапович, Фам Уиен Тхи, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, А.П. Зажогин // Вестн. Бел. гос. ун-та, Сер. 1. – 2013. – № 1. – С. 29–33.

Статьи в сборниках научных трудов и материалов конференций

6. Исследование пространственного распределения макроэлементов в высушенных каплях альбуминов и белков методами лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, А.Л. Танин, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко, А.П. Зажогин // Взаимодействие излучений с твердым телом : материалы 9-й Междунар. конф., Минск, 20–22 сентября 2011 г. / Бел. гос. ун-т, НАН Беларуси, Бел. респуб. фонд фунд. иссл ; редкол.: В.М. Анищик [и др.]. – Минск, 2011. – С. 462–464.
7. Чинь Нгок Хоанг. Разработка методик полуколичественной оценки прочности связей в комплексах алюминиевая соль–волокно методом лазерной искровой спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, М.П. Патапович //

Взаимодействие излучений с твердым телом : материалы 9-й Междунар. конф., Минск, 20–22 сентября 2011 г. / Бел. гос. ун-т, НАН Беларуси, Бел. респуб. фонд фунд. иссл ; редкол.: В.М. Анищик [и др.]. – Минск, 2011. – С. 460–461.

8. Исследование пространственного распределения Al, Ca, Mg, Zn в высушенных каплях альбуминов и белков методами лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, А.Л. Танин, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко // Актуальные проблемы физики твердого тела : сборник докладов V Междунар. науч. конф., Минск, 18 – 21 октября 2011 г. : в 3 т. / НАН Беларуси, Науч.-практ. центр НАН Беларуси по материаловедению, Бел. респуб. фонд фундам. иссл, Бел. физ. о-во ; редкол.: Н.М. Олехнович [и др.]. – Минск, 2011. – Т. 3. – С. 268–270.

9. Разработка методик анализа распределения макроэлементов по поверхности высохших капель белка методом лазерной искровой спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, А.Л. Танин, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко // Проблемы взаимодействия излучения с веществом : материалы III Междунар. науч. конф., Гомель, 09–11 ноября 2011 г.: в 2 ч. / Мин-во обр. РБ, Гомел. гос. ун-т им. Франциска Скорины, Бел. респуб. фонд фундам. иссл ; редкол.: А.В. Рогачев [и др.]. – Гомель, 2011. – Ч. 2. – С. 152–156.

10. Синтез нанокластеров оксидов кальция из солей, введенных в пористые тела, при лазернохимическом активировании процессов / М.П. Патапович, Чинь Нгок Хоанг, Ж.И. Булойчик, А.П. Зажогин // Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов : межвуз. сб. науч. тр. / Мин–во обр. и науки РФ, Твер. гос. ун-т ; редкол.: В.М. Самсонов [и др.]. – Тверь, 2011. – Вып. 3. – С. 176–180.

11. Чинь Нгок Хоанг. Спектральный контроль и управление процессами образования кластеров нитридов алюминия в плазме при воздействии на алюминий сериями сдвоенных лазерных импульсов / Чинь Нгок Хоанг, А.Р. Фадаиян, А.П. Зажогин // Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов : межвуз. сб. науч. тр. / Мин–во обр. и науки РФ, Твер. гос. ун-т ; редкол.: В.М. Самсонов [и др.]. – Тверь, 2011. – Вып. 3. – С. 259–263.

12. Чинь Нгок Хоанг. Исследование радиального распределения катионов Ca, Mg в высохших каплях белка на бумажных фильтрах методом лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, Фам Уиен Тхи // Физика конденсированного состояния : сборник научных статей XX респуб. науч. конф. аспир., магистр. и студ., Гродно, 19–20 апреля 2012 г.: в 2 ч. / Гродн. гос. ун-т им. Я. Купалы ; редкол.: Е.А. Ровба [и др.]. – Гродно, 2012. – Ч. 2. – С. 148–152.

13. Чинь Нгок Хоанг. Исследование динамики абляции и состава приповерхностной лазерной плазмы сплавов алюминия от интервала между сдвоенными лазерными импульсами / Чинь Нгок Хоанг, Лэ Тхи Ким Ань // Физика конденсированного состояния : сборник научных статей XX респуб. науч. конф. аспир., магистр. и студ., Гродно, 19–20 апреля 2012 г.: в 2 ч. / Гродн. гос. ун-т им. Я. Купалы ; редкол.: Е.А. Ровба [и др.]. – Гродно, 2012. – Ч. 2. – С. 152–156.

14. Исследование особенностей влияния ортофосфатов K и Na на распределение катионов Ca, Mg и Al в высохших на бумажных фильтрах каплях белка методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / М.П. Патапович, Чинь Нгок Хоанг, Фам Уиен Тхи, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко, А.Л. Танин, А.П. Зажогин // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : Сборник статей Междунар. науч. конф., Минск, 19–21 июня 2012 г.: в 2 ч. / НАН Беларуси, Мин–во обр, РБ, Бел. гос. ун-т, Ин–т биофиз. и клет. инжен. НАН Беларуси, Бел. общ. объед. фотобиологов и биофизиков ; редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск, 2012. – Ч. 2. – С. 185–188.

15. Исследование влияния температуры на радиальное распределение катионов Ca, Mg в высохших на бумажных фильтрах каплях белка методом лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, М.П. Патапович, Фам Уиен Тхи, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко, А.Л. Танин, А.П. Зажогин // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : Сборник статей Междунар. науч. конф., Минск, 19–21 июня 2012 г.: в 2 ч. / НАН Беларуси, Мин–во обр, РБ, Бел. гос. ун-т, Ин–т биофиз. и клет. инжен. НАН Беларуси, Бел. общ. объед. фотобиологов и биофизиков ; редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск, 2012. – Ч. 2. – С. 207–210.

16. Исследование пространственного распределения макроэлементов в высушенных каплях белков методами лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, М.П. Патапович, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко, А.Л. Танин, А.П. Зажогин // Процессы самоорганизации в высыхающих каплях многокомпонентных жидкостей: эксперименты, теории, приложения : материалы II Междунар. конф., Астрахань, 17–22 сентября 2012 г. / Мин–во обр. и науки РФ, Астрахан. гос. ун-т ; редкол.: Ю.Ю. Тарасевич [и др.]. – Астрахань, 2012. – С. 185–188.

17. Исследование радиального распределения катионов Ca, Mg в высохших на бумажных фильтрах каплях белка методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, М.П. Патапович, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко, А.Л. Танин, А.П. Зажогин // Процессы самоорганизации в высыхающих каплях многокомпонентных

жидкостей: эксперименты, теории, приложения : материалы II Междунар. конф., Астрахань, 17–22 сентября 2012 г. / Мин–во обр. и науки РФ, Астрахан. гос. ун-т ; редкол.: Ю.Ю. Тарасевич [и др.]. – Астрахань, 2012. – С. 189–191.

18. Исследование влияния температуры на радиальное распределение катионов Ca, Mg в высохших на бумажных фильтрах каплях белка методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, М.П. Патапович, Фам Уиен Тхи, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко, А.Л. Танин, А.П. Зажогин // Процессы самоорганизации в высыхающих каплях многокомпонентных жидкостей: эксперименты, теории, приложения : материалы II Междунар. конф., Астрахань, 17–22 сентября 2012 г. / Мин–во обр. и науки РФ, Астрахан. гос. ун-т ; редкол.: Ю.Ю. Тарасевич [и др.]. – Астрахань, 2012. – С. 193–196.

19. Разработка методик определения содержания основных эссенциальных элементов в волосах методами лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии / М.П. Патапович, Чинь Нгок Хоанг, И.Д. Пашковская, Лэ Тхи Ким Ань, Ж.И. Булойчик Н.И. Нечипуренко, Г.Т. Маслова, А.П. Зажогин // «МЕДЭЛЕКТРОНИКА – 2012» Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии : сборник науч. ст. VII Междунар. науч.-техн. конф., Минск, 13–14 декабря 2012 г. / Мин–во обр. РБ, Мин–во здравоохр. РБ, Бел. гос. ун-т инф. и рад., Бел. мед. акад. посл. образ. ; редкол.: В.С. Улащик [и др.]. – Минск, 2012. – С. 184–185.

20. Исследование влияния гидроокисей K и Na на распределение Ca, Mg и Al в высохших на бумажных фильтрах каплях белка методом лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, М.П. Патапович, И.Д. Пашковская, А.Л. Танин, Фам Уиен Тхи, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко, А.П. Зажогин // «МЕДЭЛЕКТРОНИКА – 2012» Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии : сборник науч. ст. VII Междунар. науч.-техн. конф., Минск, 13–14 декабря 2012 г. / Мин–во обр. РБ, Мин–во здравоохр. РБ, Бел. гос. ун-т инф. и рад., Бел. мед. акад. посл. образ. ; редкол.: В.С. Улащик [и др.]. – Минск, 2012. – С. 201–203.

21. Синтез нанокластеров оксидов цинка и меди из растворов ортофосфатных солей при лазерной абляции пористых образцов / М.П. Патапович, Чинь Нгок Хоанг, Лэ Тхи Ким Ань, А.П. Зажогин // Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов : межвуз. сб. науч. тр. / Мин–во обр. и науки РФ, Твер. гос. ун-т ; редкол.: В.М. Самсонов [и др.]. – Тверь, 2012. – Вып. 4. – С. 230–234.

22. Синтез нанокластеров оксидов кальция и алюминия из растворов фосфатных солей при лазерной абляции пористых образцов / Чинь Нгок Хоанг, М.П. Патапович, Фам Уиен Тхи, А.П. Зажогин // Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов : межвуз. сб. науч. тр. /

Мин–во обр. и науки РФ, Твер. гос. ун-т ; редкол.: В.М. Самсонов [и др.]. – Тверь, 2012. – Вып. 4. – С. 314–318.

23. Исследование влияния гидроксидов K и Na на распределение катионов Ca, Mg и Al в высохших на бумажных фильтрах каплях белка методом лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, Фам Уиен Тхи, А.Л. Танин, А.В. Щеголев, Ж.И. Булойчик, Г.Т. Маслова // Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния : материалы II Междунар. науч.-прак. конф., посвящ. 110-летию со дня рож. акад. А.Н. Севченко, Минск, 27–28 февраля 2013 г. / Мин–во обр. РБ, Науч.-ис. учр."ин–т прик. физ. проб. им. А.Н.Севченко" БГУ ; редкол.: В.И. Попечиц [и др.]. – Минск. 2013. – С. 246–247.

24. Исследование влияния ортофосфатов K на пространственное распределение катионов Ca, Mg и Al в высохших на бумажных фильтрах каплях белка методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, Фам Уиен Тхи, А.Л. Танин, А.В. Щеголев, Ж.И. Булойчик, Г.Т. Маслова // Прикладные проблемы оптики, информатики, радиофизики и физики конденсированного состояния : материалы II Междунар. науч.-прак. конф., посвящ. 110-летию со дня рож. акад. А.Н. Севченко, Минск, 27–28 февраля 2013 г. / Мин–во обр. РБ, Науч.-ис. учр."ин–т прик. физ. проб. им. А.Н.Севченко" БГУ ; редкол.: В.И. Попечиц [и др.]. – Минск. 2013. – С. 248–249.

Тезисы докладов конференций

25. Исследование пространственного распределения макроэлементов в высушенных каплях белков методами лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, А.Л. Танин, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко, А.П. Зажогин // III Конгресс физиков Беларуси : сборник тезисов, Минск, 25–27 сентября 2011 г. / НАН Беларуси, Мин-во обр. РБ, Ин–т физ. им. Б.И. Степанова НАН Беларуси, Бел. гос. ун-т, Бел. физ. о–во, Бел. респуб. фонд фундам. иссл ; редкол.: С.Я. Килин [и др.]. – Минск, 2011. – С. 84.

26. Чинь Нгок Хоанг. Разработка методик полуколичественной оценки прочности связей в комплексах соль алюминия-пористое тело методом лазерной атомно–эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, А.П. Зажогин // «НИРС–2011» : сборник тезисов докладов Респуб. науч. конф. студ. и аспир. РБ, Минск, 18 октября 2011 г. / Бел. гос. ун-т, Бел. нац. техн. ун-т, Бел. гос. агр. техн. ун-т, Бел. гос. техн. ун-т, Бел. гос. ун-т инф. и рад., Бел. гос. ун-т культ. и иск., Витеб. гос. техн. ун-т ; редкол.: С.В. Абламейко [и др.]. – Минск, 2011. – С.18.

27. Investigation of the elements redistribution in a volume of biological fluid droplet at its drying on a surface / Trinh Ngoc Hoang, A.L. Tanin, I.D. Pashkovskaya, N.I. Nechipurenko, J.I. Buloichik, A.P. Zajogin // “Sviridov Readings 2012” : book of abstr. 6th Intern. conf. on chemistry and chemical education, Minsk, 9 – 13 April 2012 / Publ. center of BSU ; eds.: E.I. Vasilevskaya [et al]. – Minsk, 2012. – P. 35.

28. Исследование особенностей радиальной миграции катионов Ca, Mg и Al при высыхании капель водных растворов белков на бумажных фильтрах методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, М.П. Патапович, Фам Уиен Тхи, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко, А.Л. Танин, А.П. Зажогин // «Аналитика РБ-2012» : сборник тезисов II Респуб. науч. конф. по анал. хим. с междунар. участ., Минск, 14–15 мая 2012 г. / Хим. фак. БГУ, НТПК «Анализ Х» ; редкол.: О.А. Ивашкевич [и др.]. – Минск, 2012. – С. 46.

29. Исследование влияния фосфатов K и Na на распределение катионов Ca и Mg в высохших на бумажных фильтрах каплях белка методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, Фам Уиен Тхи, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко, А.Л. Танин, А.П. Зажогин // Лазерная физика и оптические технологии : сборник тезисов IX междунар. науч. конф., Гродно, 30 мая – 2 июня 2012 г. / НАН Беларуси, Мин–во обр. РБ, Ин–т физ. им. Б.И.Степанова НАН Беларуси, Гродн. гос. ун-т им. Я.Купалы, Бел. респуб. фонд фунд. иссл. Бел. физ. о–во ; редкол.: В.В. Кабанов [и др.]. – Гродно, 2012. – С. 264.

30. Исследование влияния температуры на радиальное распределение катионов Ca и Mg в высохших на бумажных фильтрах каплях белка методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, Фам Уиен Тхи, И.Д. Пашковская, Ж.И. Булойчик, Н.И. Нечипуренко, А.Л. Танин, А.П. Зажогин // Лазерная физика и оптические технологии : сборник тезисов IX междунар. науч. конф., Гродно, 30 мая – 2 июня 2012 г. / НАН Беларуси, Мин–во обр. РБ, Ин–т физ. им. Б.И.Степанова НАН Беларуси, Гродн. гос. ун-т им. Я.Купалы, Бел. респуб. фонд фунд. иссл. Бел. физ. о–во ; редкол.: В.В. Кабанов [и др.]. – Гродно, 2012. – С. 265.

31. Исследования влияния гидроокисей K и Na на радиальное распределение катионов Ca, Mg и Al в высохший каплях белка методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, М.П. Патапович, Фам Уиен Тхи, Лэ Тхи Ким Ань, И.Д. Пашковская, Н.И. Нечипуренко, А.Л. Танин, Ж.И. Булойчик, Г.Т. Маслова, А.П. Зажогин // Новые тенденции и методы в биофизике : материалы докладов IV Съезд биофизиков России, Нижний Новгород, 20–26 августа 2012 г. / РАН, Отдел. биол. наук РАН, Науч. совет РАН по биол. Физ., Мин–во обр. и науки РФ, Нац. ком. Рос.

биофиз., Нижегород. Гос. ун-т им. Н.И. Лобачевского, Ин–т прик. Физ. РАН, Ин–т биоф. клет. РАН, Ин–т теор. и экспер. Биофиз. РАН, МГУ им. М.В. Ломоносова ; редкол.: А.Б. Рубин [и др.]. – Нижний Новгород, 2012. – С. 101.

32. Исследования влияния фосфатов K на распределение макроэлементов в высушенных каплях белка методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, Фам Уиен Тхи, И.Д. Пашковская, Н.И. Нечипуренко, А.Л. Танин, Ж.И. Булойчик, Г.Т. Маслова, А.П. Зажогин // Новые тенденции и методы в биофизике : материалы докладов IV Съезд биофизиков России, Нижний Новгород, 20–26 августа 2012 г. / РАН, Отдел. биол. наук РАН, Науч. совет РАН по биол. Физ., Мин–во обр. и науки РФ, Нац. ком. Рос. биофиз., Нижегород. Гос. ун-т им. Н.И. Лобачевского, Ин–т прик. Физ. РАН, Ин–т биоф. клет. РАН, Ин–т теор. и экспер. Биофиз. РАН, МГУ им. М.В. Ломоносова ; редкол.: А.Б. Рубин [и др.]. – Нижний Новгород, 2012. – С. 102.

33. Влияние фосфатов Na на распределение макроэлементов в высушенных каплях белка методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, Фам Уиен Тхи, И.Д. Пашковская, Н.И. Нечипуренко, А.Л. Танин, Ж.И. Булойчик, Г.Т. Маслова, А.П. Зажогин // «Россия–Беларусь–Сколково: Единое инновационное пространство» : сборник тезисов междунар. науч. конф., Минск, 19 сентября 2012 г. / НАН Беларуси, НКО фонд разв. центра разр. и ком. нов. техн. ; редкол.: С.Я. Килин [и др.]. – Минск, 2012. – С. 169–170.

34. Чинь Нгок Хоанг. Исследование влияние ортофосфатов K на пространственное распределение катионов Ca, Mg и Al при высыхании на бумажных фильтрах каплях крови и плазмы методом лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии / Чинь Нгок Хоанг, Фам Уиен Тхи // Физика конденсированного состояния : материалы XXI междунар. науч.-практ. конф. аспир., магистр. и студ., Гродно, 18–19 апреля 2013 г./ Гродн. гос. ун-т им. Я. Купалы ; редкол.: Г.А. Хацкевич [и др.]. – Гродно, 2013. – С. 229–230.

РЭЗЮМЭ

Чынь Нгок Хаанг

Лазерная атамна-эмісійная спектраметрыя лакальнага размеркавання макраэлементаў ва ўзорах біялагічных вадкасцей, высахлых на цвёрдай паверхні

Ключавыя словы: двухімпульсная лазерная атамна-эмісійная спектраметрыя, здвоеныя лазерныя імпульсы, прыпаверхневая лазерная плазма, біялагічная вадкасць, прасторавае размеркаванне элементаў.

Мэтай дысертацыйнай работы з'яўляецца распрацоўка новых методык колькаснага вызначэння лакальнага прасторавага размеркавання і агульнага ўтрымання эсенцыяльных элементаў Ca, Mg і Al у высахлых кроплях БВ метадам лакальнай лазернай атамна-эмісійнай шматканальнай спектраметрыі і выяўлення асаблівасцей агрэгіравання малекул бялкоў з макраэлементамі для нормы і паталогіі з мэтай пошуку маркераў захворванняў. Эксперыменты праводзіліся з дапамогай лазернага двухімпульснага атамна-эмісійнага спектрометра LSS-1 (вытворчасць сумеснага беларуска-японскага прадпрыемства "LOTIS TII").

Даследаванні паказалі, што пераход ад аднаімпульснай да двухімпульснай абляцыі пры нязменнай энергіі і магутнасці лазернага выпраменьвання прыводзіць да шматразовага павелічэння інтэнсіўнасці спектральных ліній элементаў у прыпаверхневай лазернай плазме. Двухімпульсная лазерная атамна-эмісійная шматканальная спектраметрыя дае магчымасць зарэгістраваць лакальнае размеркаванне эсенцыяльных элементаў Ca, Mg і Al пры абляцыі высахлых кропель БВ. Упершыню эксперыментальна паказана, што максімальная канцэнтрацыя макраэлементаў пры высыханні кроплі БВ (кроў, плазма, яечны бялок і г. д.) назіраецца на перыферыі кроплі. Адной з прымет захворвання могуць з'яўляцца парушэнні ў прасторавым размеркаванні канцэнтрацый макраэлементаў.

Папярэдняе нанясенне на порыстую падложку альбуміну і фасфатаў калію (натрыю) істотна памяншае хуткасць руху катыёнаў да перыферыі пры высыханні кроплі БВ і памер кроплі. Усталяваная лінейная карэляцыйная залежнасць паміж дыяметрам кроплі, тыпам фасфату калію, парадкам нанясення раствораў на фільтр і растваральнасцю ўтвораных фасфатаў макраэлементаў дазваляе распрацаваць методыкі і стандартныя ўзоры для ацэнкі лакальнага і агульнага ўтрымання макраэлементаў у высушаных кроплях БВ.

Распрацаваныя методыкі і стандартныя ўзоры дазваляюць правесці ацэнкі лакальнага прасторавага і агульнага ўтрымання макраэлементаў у высушаных кроплях БВ пацыентаў з дапамогай метадаў двухімпульснай лазернай атамна-эмісійнай спектраметрыі.

РЕЗЮМЕ

Чинь Нгок Хоанг

Лазерная атомно-эмиссионная спектрометрия локального распределения макроэлементов в образцах биологических жидкостей, высохших на твердой поверхности

Ключевые слова: двухимпульсная лазерная атомно-эмиссионная спектрометрия, сдвоенные лазерные импульсы, приповерхностная лазерная плазма, биологическая жидкость, пространственное распределение элементов.

Целью диссертационной работы является разработка новых методик количественного определения локального пространственного распределения и общего содержания эссенциальных элементов Ca, Mg и Al в высохших каплях БЖ методом локальной лазерной атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии и выявления особенностей агрегирования молекул белков с макроэлементами для нормы и патологии с целью поиска маркеров заболеваний. Эксперименты проводились с помощью лазерного двухимпульсного атомно-эмиссионного спектрометра LSS-1 (производство совместного белорусско-японского предприятия "LOTIS TII").

Исследования показали, что переход от одноимпульсной к двухимпульсной абляции при неизменной энергии и мощности лазерного излучения приводит к многократному увеличению интенсивности спектральных линий элементов в приповерхностной лазерной плазме. Двухимпульсная лазерная атомно-эмиссионная многоканальная спектрометрия дает возможность зарегистрировать локальное распределение эссенциальных элементов Ca, Mg и Al при абляции высохших капель БЖ. Впервые, экспериментально показано, что максимальная концентрация макроэлементов при высыхании капли БЖ (кровь, плазма, яичный белок и т.д.) наблюдается на периферии капли. Одним из признаков заболевания могут являться нарушения в пространственном распределении концентраций макроэлементов.

Предварительное нанесение на пористую подложку альбумина и фосфатов калия (натрия) существенно уменьшает скорость движения катионов к периферии при высыхании капли БЖ и размер капли. Установленная линейная корреляционная зависимость между диаметром капли, типом фосфата калия, порядком нанесения растворов на фильтр и растворимостью образующихся фосфатов макроэлементов позволяет разработать методики и СО для оценки локального и общего содержания макроэлементов в высушенных каплях БЖ.

Разработанные методики и СО позволяют провести оценки локального пространственного и общего содержания макроэлементов в высушенных каплях БЖ пациентов с помощью методов двухимпульсной лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии.

SUMMARY

Trinh Ngoc Hoang

Atomic-emission laser spectrometry of the local macroelemental distribution in samples of biological fluids dried on solid surface

Key words: two-pulse atomic-emission laser spectrometry, double laser pulses, surface laser plasma, biological fluid, spatial elemental distribution.

The principal objective of this work is to develop new methods for quantitative estimation of the local spatial distribution and total content of the essential elements Ca, Mg, and Al in dried drops of biological fluids (BF) using the multichannel local atomic-emission laser spectrometry and to reveal the aggregation features of albumin molecules with macroelements for the norm and pathology in search of the possible disease markers. The experiments have been performed with the use of a LSS-1 two-pulse atomic-emission laser spectrometer (produce of the Belarusian-Japanese enterprise "LOTIS TII").

As shown by the conducted studies, a change from single- to two-pulse ablation at the constant energy and power of laser radiation results in a multiple increase of the spectral line intensities for the elements in the surface laser plasma. Two-pulse atomic-emission laser spectrometry allows for recording of the local distribution of the essential elements Ca, Mg and Al on ablation of the dried drops of BF. For the first time it has been demonstrated experimentally that a maximal concentration of macroelements upon drying of the drops of BF (blood, plasma, egg-white, etc.) is observed at the drop periphery. Disturbances in the spatial distribution of macroelemental concentrations may be taken as an indication of a disease.

Preliminary application of albumin and potassium or sodium phosphates on a porous substrate leads to a considerable decrease in the cationic motion to the periphery on drying of a BF drop and in the drop size. The established linear relationship between the drop diameter, potassium phosphate type, solution application procedure and solubility of the formed phosphates makes it possible to develop the methods and standard samples for estimation of the local and total microelemental contents in dried drops of BF.

The developed methods and standard samples provide the basis for estimation of the local spatial distribution and total microelemental content in dried drops of BF of the patients with the use of two-pulse atomic-emission laser spectrometry.

Подписано в печать15.05.2013. Формат 60×84 $^{1}/_{16}$. Бумага офсетная.
Ризография. Усл. печ. л. 1,63. Уч.-изд. л. 1,75.
Тираж 70 экз. Заказ 286.

Отпечатано с оригинала-макета заказчика
в республиканском унитарном предприятии
«Издательский центр Белорусского государственного университета».
ЛП № 02330/0494178 от 03.04.2009.
Ул. Красноармейская, 6, 220030, Минск.