

8. Berghe S. V., Laval J. P., Verwerft M. et al. // Ibid. Vol. 4. P. 1857.
 9. Спицын В. И., Ипполитова Е. А. // Исследования в области химии урана. М., 1961. С. 57.
 10. Rousseau D. L., Miller R. E., Leroi G. E. // J. Chem. Phys. 1967. Vol. 48. № 8. P. 3409.
 11. Jautès D. W., Leong W. H. // J. Chem. Phys. 1968. Vol. 49. № 11. P. 5089.
 12. Khulbe P. K., Agarwal A., Raghuvanshi G. S. // J. Rat. Spectr. 1989. Vol. 20. P. 283.
 13. Brooker M. H. // J. Chem. Phys. 1970. Vol. 53. № 7. P. 2670.

Поступила в редакцию 26.11.12.

Анатолий Иванович Комяк – доктор физико-математических наук, профессор кафедры лазерной физики и спектроскопии.

Дмитрий Степанович Умрейко – доктор физико-математических наук, профессор, главный научный сотрудник НИИПФП им. А. Н. Севченко БГУ.

Михаил Романович Последович – кандидат физико-математических наук, доцент, ведущий инженер кафедры физической оптики.

УДК 533.9.082.5;621.373.826;621.793.79

ЧИНЬ НГОК ХОАНГ (ВЬЕТНАМ), М. П. ПАТАПОВИЧ, ФАМ УИЕН ТХИ (ВЬЕТНАМ),
 И. Д. ПАШКОВСКАЯ, Ж. И. БУЛОЙЧИК, А. П. ЗАЖОГИН

ВЛИЯНИЕ ГИДРОКСИДОВ К И Na НА ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ Ca, Mg и Al В ВЫСОХШИХ КАПЛЯХ БЕЛКА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОЙ АТОМНО-ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ

The effect of potassium and sodium hydrates on the spatial distribution of calcium, magnesium, and aluminum when the drops of aqueous solution of egg albumin are drying on the surface of a porous body (paper filter) has been studied using the multichannel atomic-emission laser spectrometry. It has been shown that previous coating of the substrate with albumin and potassium or sodium hydrates leads to a considerable decrease in the cationic motion of aluminum, calcium, and magnesium to the periphery on drying of the biologic liquid and to its reduced size. Varying the composition of hydroxides and the solution application procedure, one can reduce significantly the drop diameter thus improving the analytical sensitivity. At the same time, the possibility of competing reactions associated with reformation of more soluble metal compounds should be taken into consideration.

Ключевые слова: приповерхностная лазерная плазма, лазерная искровая спектроскопия, двоянные лазерные импульсы, кальций, магний, алюминий, гидроксиды калия и натрия.

Key words: surface laser-produced plasma, laser spark spectrometry, double laser pulses, pulsed laser-induced evaporation, calcium, magnesium, aluminum, potassium and sodium hydrates.

В последние десятилетия внимание исследователей привлекли процессы, протекающие при испарении с твердой горизонтальной подложки капля жидкости и их высыхании. Изучение этих процессов связано как с чисто научным интересом, так и с многочисленными приложениями, поскольку наблюдаемые процессы образования структур важны при проведении медицинской диагностики, высокопроизводительном тестировании лекарственных средств, решении задач биосохранения, для растягивания ДНК и РНК, при производстве полимерных пленок наноструктур, создании структурированных поверхностей микро- и наномасштабов и др. [1–3].

В частности, внимание медиков привлекают изменения конформации и других физико-химических свойств белков, связанные с развитием патологических процессов в организме [1, 2].

Одним из белков, легко подвергающихся модификациям, является альбумин, составляющий около половины массы белков плазмы крови и присутствующий во всех жидкостях организма. В составе межклеточной жидкости альбумин взаимодействует почти со всеми клетками и в процессе циркуляции изменяется в зависимости от состояния органов и тканей. Изменения альбуминовых центров были обнаружены при самых разных заболеваниях [1], причем степень такого изменения отражает состояние больных, а молекула альбумина является участником и/или индикатором этого процесса [2].

Интерес к этим объектам обусловлен также тем, что в последние годы в медицинской диагностике нашел применение метод клиновидной дегидратации [3, 4]. Данный метод на основании анализа структур, образовавшихся при высыхании капли биологической жидкости (плазмы крови, спинно-мозговой жидкости, слюны и т. д.), позволяет выявлять широкий спектр различных заболеваний человека на доклинической стадии. Правда, физико-химические причины возникновения этих структур на сегодняшний день еще не выяснены, проблема требует изучения, хотя установленные эмпирические закономерности уже дают возможность оценить состояние организма и активно используются в медицинской практике [3, 5, 6].

При высыхании капли биологической жидкости протекает множество разнообразных процессов различной природы от нано- до макроуровня. Однако до сих пор нет полной ясности относительно химического состава периферической и центральной части высушенных капель. Так, в частности, согласно [4–9] считается, что при высыхании происходит перераспределение компонентов: белок накапливается преимущественно по краям капли, в то время как соль распределена по ее диаметру более или менее равномерно.

Нами предприняты попытки разработки методик для исследования распределения макроэлементов в высушенных каплях в среде альбумина. Возможно, в дальнейшем это поможет проводить диагностику заболевания, особенно в начальных стадиях развития, когда обычные лабораторные показатели чаще всего остаются в пределах нормы.

Ранее нами было изучено влияние фосфатов калия на пространственное распределение кальция, магния и алюминия при высыхании капли водного раствора яичного альбумина на поверхности пористого тела (бумажный фильтр). Выяснилось, что добавки фосфатных солей оказывают влияние на размеры капли биологической жидкости. Установлена корреляционная зависимость между диаметром капли, типом фосфата калия, порядком нанесения растворов на фильтр и растворимостью образующихся фосфатов кальция [10].

В настоящей работе методом локальной лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии изучено влияние гидроксидов К и Na на радиальное распределение кальция, магния и алюминия при высыхании капли водного раствора яичного альбумина на поверхности пористого тела. В качестве осадителей для хлоридов кальция, магния и алюминия использовали гидроксиды калия и натрия, поскольку гидроксиды кальция, магния и алюминия обладают ограниченной растворимостью и вполне удовлетворяют требованиям осадочной хроматографии [11]. Так, произведение растворимости для $\text{Ca}(\text{OH})_2$ составляет $6,3 \cdot 10^{-6}$, $\text{Mg}(\text{OH})_2 - 6,8 \cdot 10^{-12}$ и $\text{Al}(\text{OH})_3 - 5,7 \cdot 10^{-32}$ [12, 13].

Методика исследований и пробоподготовки

В работе использовался лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1. Динамику развития процессов абляции и приповерхностного образования плазмы исследовали при воздействии сдвоенных лазерных импульсов на анализируемую поверхность образцов высушенных капель водного раствора альбумина с катионами кальция, магния, алюминия и гидроксидов калия или натрия. Энергия импульсов излучения 58 и 42 мДж (первый и второй импульсы соответственно), временной интервал между сдвоенными импульсами 8 мкс [14, 15].

С целью разработки методики изготовления стандартных образцов для полуколичественного и количественного определения элементов в высушенных каплях белка нами использован метод осадочной бумажной хроматографии на основе катионного обмена элементов, который позволяет оценить особенности поверхностного распределения макроэлементов, в том числе размер зоны осаждения этих элементов.

Для изучения особенностей влияния гидроксидов на процессы осаждения солей и размер капли образцы готовили по двум вариантам. Первый вариант: каплю 10 % водного раствора гидроксида натрия или калия объемом 10 мкл наносили микропипеткой на поверхность беззольного бумажного фильтра (черная лента) диаметром 20 мм. Процесс сушки проходил около 5 мин при температуре 40 °С и относительной влажности воздуха 30–35 %. Затем поверх высушенной соли последовательно наносили по 10 мкл водного раствора хлорида алюминия (или кальция, магния). После каждого нанесения очередного раствора образцы высушивали при указанных условиях. Результаты исследований представлены на рис. 1.

Во втором варианте использовали растворы альбумина, гидроксида калия или натрия, смесь названных солей. Процедура послойного нанесения описана далее. Полученные результаты представлены на рис. 2.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 отражены зависимости интенсивностей линий алюминия, кальция и магния в спектрах высушенных капель растворов гидроксидов при добавке соответствующих хлоридов. Распределение катионов по диаметру капли в анализируемых образцах проводили в 30 точках примерно через 0,6 мм.

Из приведенных на рис. 1 графиков видно, что в пространственном распределении макроэлементов для NaOH и KOH наблюдаются отличия. Так, при использовании KOH, в отличие от NaOH, однокомпонентные соли алюминия и кальция распределяются по пятну меньшего размера. Для магния влияние

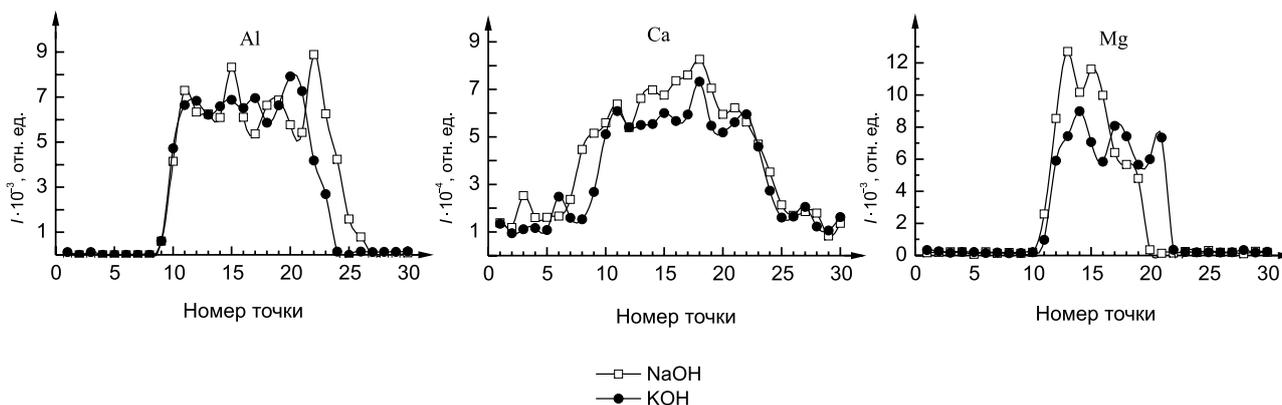


Рис. 1. Интенсивности линий алюминия Al I (396,153 нм), кальция Ca II (393,239 нм) и магния Mg I (383,826 нм) в зависимости от диаметра капли

имеет обратную зависимость. Необходимо заметить, что размер пятна для алюминия заметно больше, чем для магния, хотя, сравнивая растворимости гидроксидов, следовало бы ожидать обратное.

Для изучения особенностей влияния гидроксидов на процессы осаждения катионов из смесей солей и растворов альбумина и на размер капли растворы наносились в следующем порядке. Первый вариант: каплю водного раствора гидроксида калия или натрия объемом 10 мкл наносили микропипеткой на поверхность беззольного бумажного фильтра, затем последовательно – смесь водных растворов хлоридов алюминия, кальция и магния и 0,5 % альбумина. После каждого нанесения очередного раствора образцы высушивали при описанных условиях. Порядок нанесения растворов во втором варианте следующий: альбумин, гидроксид калия или натрия, смесь хлоридов солей.

Пространственное распределение катионов для обоих вариантов представлено на рис. 2 а, б.

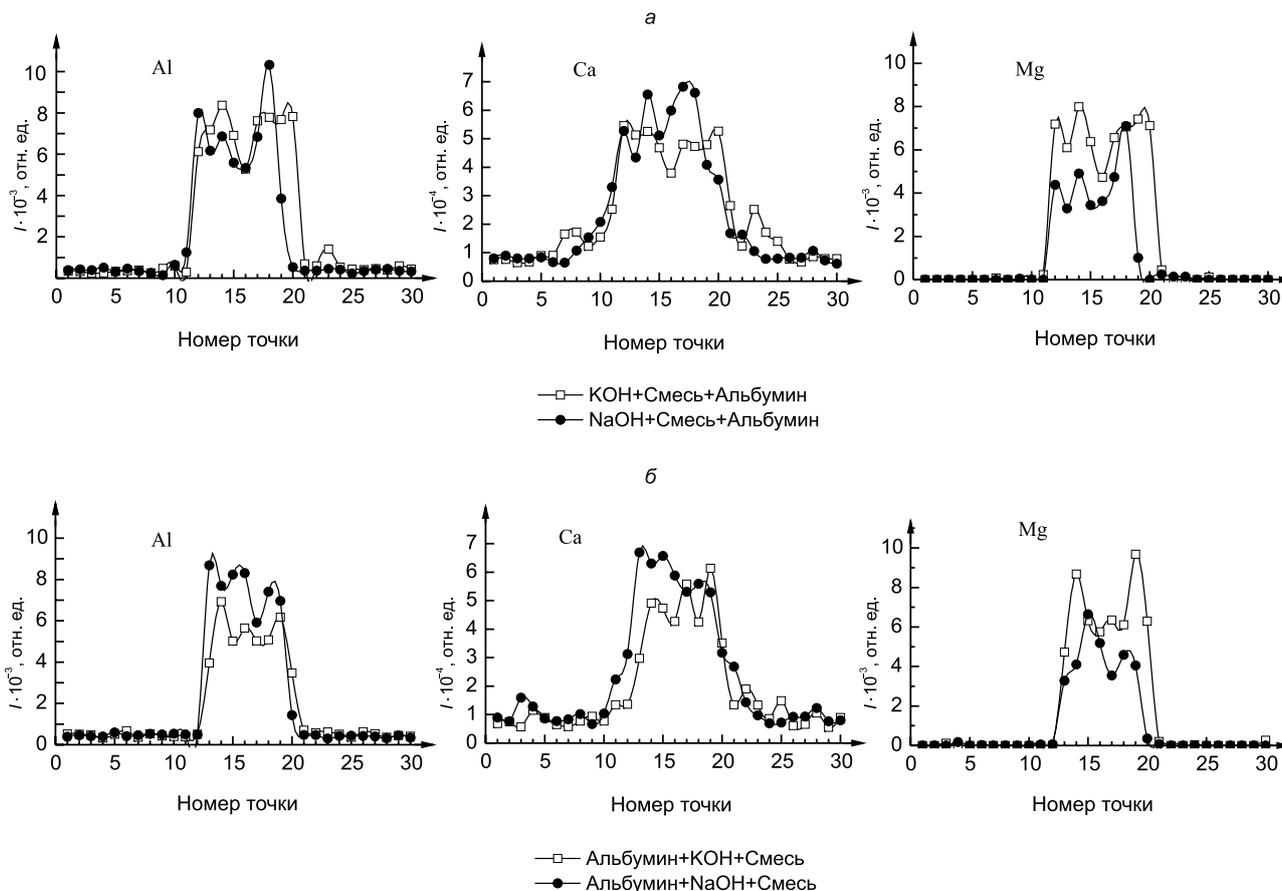


Рис. 2. Интенсивности линий алюминия Al I (396,153 нм), кальция Ca II (393,239 нм) и магния Mg I (383,826 нм) в зависимости от диаметра капли: а – первый вариант; б – второй вариант

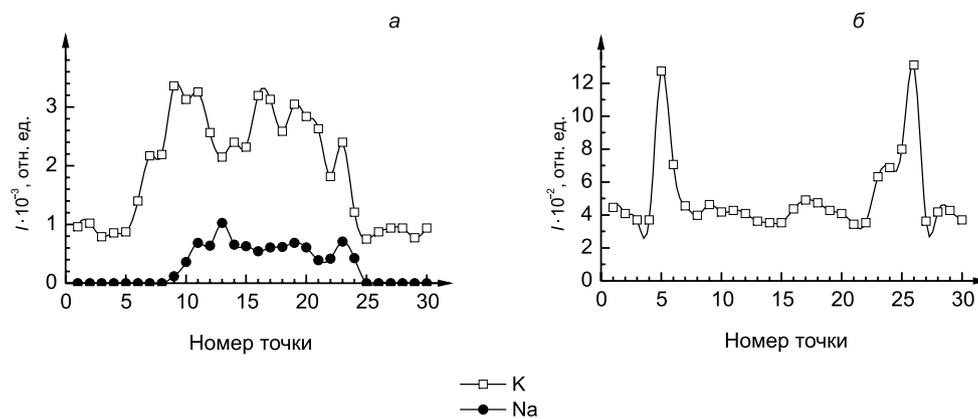


Рис. 3. Интенсивности линий калия К I (404,41 нм) и Na I (330,232 нм) в зависимости от диаметра капли: а – свеженанесенный раствор, б – с нанесенной пробой соли

При оценке отличий распределения Al, Mg и Ca (см. рис. 2 а) видно, что для Al и Mg при использовании NaOH размеры пятна меньше, чем в случае KOH, а для Ca – примерно одинаковы. Для выяснения причин нами изучено распределение нанесенных на фильтр гидроксидов калия и натрия (рис. 3). Из графиков на рис. 3 а следует, что размер пятна для KOH больше, чем для NaOH. Это хорошо согласуется с растворимостью щелочей. При комнатной температуре растворимость KOH несколько больше, чем NaOH [14].

Второй вариант нанесения растворов (альбумин, гидроксид натрия или калия, смесь солей) дает меньший размер пятна. Заметно и различие в действии гидроксидов калия и натрия. Так, для Ca влияние KOH меньше, чем NaOH, для Mg наблюдается обратная зависимость, для Al размеры пятна примерно равны.

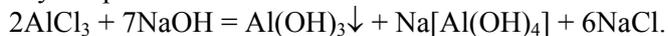
При введении гидроксидов концентрация макроэлементов в центральной части начинает заметно увеличиваться, особенно для образца, где в первую очередь наносили раствор альбумина (см. рис. 2 б). Анализ позволяет сделать следующее предположение: белок, высыхая в капиллярах фильтра, увеличивает локальную концентрацию щелочи в центре образца, что способствует более высокой скорости образования гидроксидов алюминия, кальция и магния.

Согласно полученным результатам, влияние гидроксидов на размер пятна для смеси солей более существенно, чем для однокомпонентных солей. Качественно это можно объяснить смещением равновесия химического взаимодействия в сторону образования труднорастворимых гидроксидов алюминия в виде геля и захватом ими катионов магния и кальция при высыхании капли. Катионы калия или натрия в виде растворов хлоридов при этом диффундируют на периферию капли, что показано на рис. 3 б.

Отмеченное несоответствие между размером пятна для гидроксида алюминия по сравнению с гидроксидом магния (рис. 1 а) можно объяснить тем, что свежобразованный гидроксид алюминия плохо растворяется в воде, но хорошо – в щелочи [11, 16].



или суммарно:



В результате образуются алюминаты: натрия – $\text{Na}[\text{Al}(\text{OH})_4]$ (тетрагидроксоалюминат натрия), калия – $\text{K}[\text{Al}(\text{OH})_4]$ (тетрагидроксоалюминат калия) или др. Так как для атома алюминия в этих соединениях характерно координационное число 6, а не 4, то действительные формулы указанных тетрагидроксо соединений следующие: $\text{Na}[\text{Al}(\text{OH})_4(\text{H}_2\text{O})_2]$ и $\text{K}[\text{Al}(\text{OH})_4(\text{H}_2\text{O})_2]$.

Ион $[\text{Al}(\text{OH})_4]^-$ существует в водных растворах. Алюминаты щелочных металлов хорошо растворимы в воде (37 г/100 г H_2O [13]), их водные растворы вследствие гидролиза устойчивы только при избытке щелочи. В связи с этим пространственное распределение катионов алюминия при высыхании будет значительно больше, чем при недостатке гидроксида, как во втором случае (гидроксид натрия (калия) + смесь хлоридов).

При анализе графиков можно также заметить, что контуры пятна для кальция, в отличие от алюминия и магния, отличаются размытостью границ по сравнению с резким возрастанием интенсивности для алюминия и магния, особенно для смеси солей. Анализ показал, что это может быть обуслов-

лено обратным конкурирующим процессом, т. е. образованием гидроксидов щелочных металлов при взаимодействии хлоридов щелочных металлов и гидроксидов кальция. Образующийся в ходе реакции обмена в растворе NaCl (KCl) значительно повышает растворимость Ca(OH)₂ [12]. Это тем более вероятно, поскольку концентрация катионов калия, натрия на границе пятна в несколько раз превосходит среднюю начальную концентрацию (см. рис. 3 б). Такой процесс широко используется на практике для регенерации катионообменников [17–19], а также для получения NaOH (KOH) с использованием хлоридов щелочных металлов и гидроксидов кальция [17].

Следует также отметить возможность протекания реакции [11] $MgCl_2 + Ca(OH)_2 = Mg(OH)_2 \downarrow + CaCl_2$.

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы. Варьируя состав гидроксидов и порядок нанесения растворов, можно значительно уменьшать диаметр капли, повышая, таким образом, чувствительность анализа. Однако при этом необходимо учитывать возможность сопутствующих реакций обратного образования более растворимых соединений металлов. С учетом этого разработанная методика может быть использована для того, чтобы установить пространственное распределение Al, Ca и Mg, а также Na и K в высушенных на смачиваемых поверхностях каплях как альбумина, так и других биологических жидкостей.

Поскольку большая часть биологических жидкостей (плазма крови, спинномозговая жидкость, слюна и т. д.) также представляет собой растворы различных белков, указанный метод анализа биологических объектов в сухом виде может дать дополнительные возможности прикладного использования лазерной спектроскопии.

Обнаружение нарушений в пространственном распределении макро- и микроэлементов в сравнении со стандартом дает уверенность в перспективности использования данных исследований с целью разработки методики полуколичественного и затем количественного анализа содержания элементов в высохших каплях биологических жидкостей, что может способствовать диагностике различных заболеваний.

1. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине: в 2 кн. / под ред. Ю. А. Грызунова, Г. Е. Добрецова. М., 1998. Кн. 2.
2. Лопухин Ю. М., Добрецов Г. Е., Грызунов Ю. А. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2000. № 7. С. 4.
3. Шабалин В. Н., Шатохина С. Н. Морфология биологических жидкостей человека. М., 2001.
4. Тарасевич Ю. Ю., Аюпова А. К. // ЖТФ. 2003. Т. 73. Вып. 5. С. 13.
5. Максимов С. А. // Бюл. сиб. медицины. 2007. № 4. С. 80.
6. Яхно Т. А., Яхно В. Г. // ЖТФ. 2009. Т. 79. Вып. 8. С. 133.
7. Тарасевич Ю. Ю., Исакова О. Л., Кондухов В. В., Савицкая А. В. // Там же. 2010. Т. 89. Вып. 5. С. 45.
8. Тарасевич Ю. Ю. // УФН. 2004. Т. 174. № 7. С. 779.
9. Тарасевич Ю. Ю., Православнова Д. М. // ЖТФ. 2007. Т. 77. Вып. 2. С. 17.
10. Чинь Нгок Хоанг (Вьетнам), Пашковская И. Д., Булойчик Ж. И., Зажогин А. П. // Вестн. БГУ. Сер. 1. 2012. № 1. С. 31.
11. Алексеев В. Н. Количественный анализ. М., 1972. С. 65.
12. Карякин Ю. В., Ангелов И. И. Чистые химические вещества. М., 1974.
13. Гороновский И. Т., Назаренко Ю. П., Некряч Е. Ф. Краткий справочник по химии. Киев, 1987. С. 649.
14. Патапович М. П., Чинь Нгок Хоанг (Вьетнам), Булойчик Ж. И., Зажогин А. П. // Вестн. БГУ. Сер. 1. 2011. № 1. С. 17.
15. Зажогин А. П., Умрейко Д. С., Патапович М. П. и др. // ЖПС. 2011. Т. 78. № 3. С. 376.
16. Глинка Н. Л. Общая химия. М., 2003.
17. Лучинский Г. П. Курс химии: учеб. для инж.-техн. (нехим.) вузов. М., 1985.
18. Николадзе Г. И., Минц Д. М., Кастальский А. А. Подготовка воды для питьевого и промышленного водоснабжения: учеб. пособие по спец. «Водоснабжение и канализация» для вузов. М., 1984.
19. Николадзе Г. И. Технология очистки природных вод. М., 1987.

Поступила в редакцию 03.12.12.

Чинь Нгок Хоанг – аспирант кафедры лазерной физики и спектроскопии. Научный руководитель – А. П. Зажогин.

Мария Петровна Патапович – аспирант кафедры лазерной физики и спектроскопии. Научный руководитель – А. П. Зажогин.

Фам Уиен Тхи – студентка 3-го курса физического факультета.

Ирина Дмитриевна Паиковская – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник РНПЦ неврологии и нейрохирургии.

Жанна Игнатьевна Булойчик – кандидат химических наук, старший научный сотрудник кафедры физической оптики.

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