



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **69773** (13) **U**  
(51) МПК (2012.01)  
**G01N 21/00**  
**G01N 21/41** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>u 2011 13162</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Максимюк Ганна Василівна (UA),</b> <b>Воробець Дмитро Зіновійович (UA),</b> <b>Лаповець Любов Євгенівна (UA),</b> <b>Санагурський Дмитро Іванович (UA),</b> <b>Максим'юк Василь Михайлович (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>08.11.2011</b>	
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.05.2012</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.05.2012, Бюл.№ 9</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ</b> <b>МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА</b> <b>ГАЛИЦЬКОГО,</b> вул. Пекарська, 69, м Львів, 79010, Україна (UA)

**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ВІЛЬНИХ ТА ЗВ'ЯЗАНИХ ІОНІВ У ВОДНИХ ЕКСТРАКТАХ ПРОБ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ**

**(57) Реферат:**

Спосіб визначення концентрації іонів у пробах біологічного матеріалу, при якому методом полуменевої і/або атомно-адсорбційної фотометрії в розділених на окремі фракції водних екстрактів проб біологічного матеріалу визначають абсолютні та відносні показники концентрації вільних і зв'язаних іонів макро- та мікроелементів.

**U**  
**UA 69773**



Корисна модель належить до галузей біології, медицини, тваринництва та рослинництва і може застосовуватись для визначення у водних екстрактах проб біологічного матеріалу абсолютних і відносних показників концентрації вільних та зв'язаних з легко-, і важкорозчинними та нерозчинними у воді неорганічними і органічними речовинами (комплексними сполуками) іонів макро- та мікроелементів. Спосіб може бути використаний в лабораторіях науково-дослідних та контрольних установ (закладів) відповідного профілю.

Відомі способи базуються на встановленні концентрації катіонних та аніонних аналітів, які активують або інгібують активність ферментів [1], визначенні концентрації іонів високочастотним титруванням проб за присутності в розчинах фосфат-іонів [2], з'ясуванні зв'язку концентрації іонів з функціональним станом ізольованих клітин в системі "клітина-середовище" [3].

Найбільш близьким аналогом до запропонованої роботи є спосіб визначення концентрації іонів в рідинах [4]. Він включає розділення проб біологічного матеріалу на складові іонселективними мембранами та визначення концентрації іонів методом мікроскопії в товщині шару, отриманого з іонів, шляхом їх осадження на електрод. Цей спосіб визначення концентрації макро- і мікроелементів у пробах різного біологічного матеріалу не дозволяє оцінювати результати досліджень функціонального стану клітин, тканин чи органів за особливостями їх зв'язку з комплексними неорганічними та органічними сполуками. За визначеними, переважно сумарними, показниками неможливо встановити частку їх негативного або позитивного впливу на функціональний стан клітин, тканин і органів.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити для потреб науково-дослідних та контрольних лабораторій відповідних установ об'єктивний, доступний і зручний спосіб визначення концентрації вільних і зв'язаних іонів у пробах біологічного матеріалу.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі визначення концентрації іонів у пробах біологічного матеріалу, що включає визначення концентрації іонів макро- і мікроелементів, згідно з корисною моделлю, шляхом полуменевої і/або атомно-адсорбційної фотометрії в розділених на окремі фракції водних екстрактів пробах біологічного матеріалу визначають абсолютні та відносні показники концентрації вільних і зв'язаних іонів макро- та мікроелементів.

Розроблений спосіб спрямований на визначення фізико-хімічними методами (полуменева і/або атомно-адсорбційна фотометрія) концентрації вільних та зв'язаних іонів у водних екстрактах проб органів людини, тварин і рослин.

Для визначення концентрації вільних і зв'язаних іонів біологічного матеріалу використано здатність солей сильних і слабких електролітів неорганічних та органічних сполук дисоціювати у водному середовищі на катіони і аніони.

Іони макро- та мікроелементів визначають в окремо взятих фракціях водних екстрактів проб біологічного матеріалу. Диференціальний розподіл суми концентрацій на вільні та зв'язані іони дозволяє отримувати абсолютні та відносні показники концентрації іонів; нові знання про існуючі механізми формування їх гомеостазу (рівноваги вмісту) у системі "клітина-середовище" та розширювати можливості об'єктивної діагностики, прогнозування, оцінки і корекції функціонального стану (норма, патологія) клітин, тканин і органів людини, тварин, рослин.

Реалізацію розробленого способу здійснюють таким чином.

Для досліджень відбирають проби масою 5,0 г і подрібнюють їх скальпелем. Подрібнені проби зважують і висушують в термостаті (сушильній шафі) до постійних значень маси за температури 105 °С. Висушені проби розтирають (гомогенізують) до дрібнодисперсного порошку. Від розтертої гомогенізованої маси проб у центрифужну пробірку відбирають 0,5 г порошку. До нього доливають 4,5 см<sup>3</sup> бідистильованої води. Залиті водою проби ретельно розмішують і одразу 5 хв. за 800 г центрифугують. Відокремлену рідину (фракція № 1) використовують для визначення концентрації вільних іонів.

Екстраговану масу порошку другий раз заливають бідистильованою водою, розмішують і за температури 18-20 °С витримують 24 години. Проби розділяють на дві фази: відокремлену рідину (фракція № 2) використовують для визначення концентрації зв'язаних іонів з легкокорозчинними у воді комплексними сполуками неорганічних та органічних речовин, а екстраговану масу порошку третій раз заливають бідистильованою водою на 48 годин.

За наведених умов проби знову розділяють на дві фази. У відокремленій рідині (фракція № 3) визначають концентрацію зв'язаних іонів з важкорозчинними у воді комплексними сполуками неорганічних та органічних речовин.

До екстрагованої маси порошку доливають 2,0 см<sup>3</sup> "царської водки". Суміш кислот та проб ретельно розмішують і витримують 24 години. Кислоту обережно випаровують у витяжній шафі на відкритому вогні газового пальника (пісочній бані).

Залишки екстрагованих проб спалюють у муфельній печі за температури 450 °С. До отриманої золи доливають 4,5 см<sup>3</sup> бідистильованої води і визначають концентрацію зв'язаних іонів з нерозчинними у воді комплексними сполуками неорганічних та органічних речовин (фракція № 4).

5 Переведення показників абсолютної концентрації іонів у відносні здійснюють таким чином: отримані для фракцій водних екстрактів № 1, 2, 3 і 4 величини додають. Суму показників абсолютної концентрації іонів приймають за 100 %, а кожної, окремо взятої фракції, - за х. Складають пропорцію і визначають відносний показник концентрації іонів у фракціях.

10 Розроблений спосіб ілюструють наведені в Таблиці 1 результати визначень, проведених методом полуменевої фотометрії, які свідчать, що у фракціях водних екстрактів (ФВЕ) тканин шкіри калитки, яєчка і білкової оболонки яєчка сумарні ( $C_1 + C_2 + C_3 + C_4$ ) показники середніх значень (М) абсолютної концентрації  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$  становлять відповідно 7,34 мМ, 106,85 мМ і 163,49 мМ.

Таблиця 1

Абсолютні показники концентрації іонів у фракціях водних екстрактів, мМ

Фракції водних екстрактів	Тканини Органів	Стат. показники	Концентрація іонів, $C_1...C_4$		
			$Ca^{2+}$	$K^+$	$Na^+$
№ 1	Шкіра калитки	$n=5, M \pm m$	$3,27 \pm 0,02$	$20,21 \pm 0,21$	$79,07 \pm 0,35$
	Яєчко	$n=5, M \pm m$	$5,45 \pm 0,07$	$113,48 \pm 0,382$	$157,05 \pm 0,60$
	Білкова оболонка яєчка	$n=5, M \pm m$	$4,57 \pm 0,08$	$52,00 \pm 0,22$	$51,79 \pm 0,55$
		$n=3, M \pm m$	$4,43 \pm 0,63$	$61,90 \pm 27,38$	$95,97 \pm 31,54$
		min...max	3,27...5,45	20,21...113,48	51,79...157,05
		$C_v$	24,76	76,61	56,92
№ 2	Шкіра калитки	$n=5, M \pm m$	$1,23 \pm 0,03$	$8,77 \pm 0,29$	$29,85 \pm 0,50$
	Яєчко	$n=5, M \pm m$	$2,54 \pm 0,21$	$38,81 \pm 0,59$	$46,77 \pm 0,88$
	Білкова оболонка яєчка	$n=5, M \pm m$	$1,72 \pm 0,02$	$21,80 \pm 0,82$	$24,60 \pm 0,70$
		$n=3, M \pm m$	$1,83 \pm 0,38$	$23,73 \pm 8,70$	$33,74 \pm 6,69$
		min...max	1,23...2,54	8,77...38,81	24,60...46,77
		$C_v$	36,17	65,14	34,34
№ 3	Шкіра калитки	$n=5, M \pm m$	$0,50 \pm 0,01$	$4,30 \pm 0,20$	$19,22 \pm 0,23$
	Яєчко	$N=5, M \pm m$	$0,59 \pm 0,02$	$23,66 \pm 1,45$	$19,17 \pm 0,34$
	Білкова оболонка яєчка	$n=5, M \pm m$	$0,38 \pm 0,02$	$11,92 \pm 0,31$	$17,69 \pm 0,58$
		$n=3, M \pm m$	$0,49 \pm 0,06$	$13,29 \pm 5,63$	$18,69 \pm 0,50$
		min...max	0,38...0,59	4,30...23,66	17,69...19,22
		$C_v$	21,50	73,37	4,65
№ 4	Шкіра калитки	$n=5, M \pm m$	$0,52 \pm 0,02$	$18,10 \pm 0,22$	$16,27 \pm 0,40$
	Яєчко	$n=5, M \pm m$	$0,39 \pm 0,02$	$4,92 \pm 0,12$	$12,04 \pm 0,27$
	Білкова оболонка яєчка	$n=5, M \pm m$	$0,86 \pm 0,03$	$2,57 \pm 0,15$	$16,97 \pm 0,58$
		$n=3, M \pm m$	$0,59 \pm 0,14$	$8,53 \pm 4,83$	$15,09 \pm 1,54$
		min...max	0,39...0,86	2,57...18,10	12,04...16,97
		$C_v$	41,13	98,13	17,67
		$P_{4:3}$	>0,5	>0,5	<0,05
		$\Sigma C_1...C_4$	7,34	106,85	163,49

15 Її середній показник у фракціях №№ 1-4 поступово зменшується:  $Ca^{2+}$  - від 4,43 до 0,59 мМ,  $K^+$  - від 61,90 до 8,53 мМ,  $Na^+$  - від 95,97 до 15,09 мМ. При цьому слід зазначити, що величина концентрації  $C_1 > C_2 > C_3$ . Однак відношення концентрацій  $C_3$  і  $C_4$ , залежно від функцій тканин (захисна, генеративна, трофічна) та фізико-хімічних властивостей іонів, - різне. Якщо

20 концентрація  $C_3$  для  $Ca^{2+}$  білкової оболонки яєчка (0,38 проти 0,86 мМ) і  $K^+$  шкіри калитки (4,30 проти 18,10 мМ) менша, ніж  $C_4$ , то  $Ca^{2+}$  шкіри калитки (0,50 проти 0,52 мМ) - однакова. Відношення концентрацій  $C_3 - C_4 Na^+$  у шкірі калитки становить 19,22 проти 16,27 мМ, яєчка - 19,17 проти 12,04 мМ, білкової оболонки яєчка - 17,69 проти 16,07 мМ та  $K^+$  яєчка - 23,66 проти

- 4,92 мМ і білкової оболонки яєчка - 11,92 проти 2,57 мМ більше, але  $K^+$  у шкірі калитки (4,30 проти 18,10 мМ) - менше. Значні відхилення мінімальних (min) і максимальних (max) значень концентрації іонів впливають на величину коефіцієнта їх варіації ( $C_v$ ). Так, якщо вказаний показник для  $Ca^{2+}$  (20-41 %) і  $Na^+$  (18-57 %) високий і майже однаковий, то для  $K^+$  (65-98 %) - суттєво вищий. Це призводить до того, що вірогідність різниці ( $P$ ) між показниками концентрації іонів різна і коливається в діапазоні від менше 0,02 до більше 0,5.

Відносні показники суми абсолютних концентрацій  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$  (Табл. 2)

Таблиця 2

Відносні показники концентрації іонів у фракціях водних екстрактів, %

Фракції	Тканини Органів	Стат. показники	Концентрація іонів, $C_1...C_4$		
			$Ca^{2+}$	$K^+$	$Na^+$
№ 1	Шкіра калитки	$n=5, M \pm m$	$59,03 \pm 0,35$	$39,24 \pm 0,30$	$54,73 \pm 0,18$
	Яєчко	$n=5, M \pm m$	$60,587 \pm 1,52$	$62,74 \pm 0,33$	$66,83 \pm 0,36$
	Білкова оболонка яєчка	$n=5, M \pm m$	$60,67 \pm 0,37$	$58,92 \pm 0,58$	$46,63 \pm 0,36$
		$n=3, M \pm m$	$60,19 \pm 0,58$	$53,63 \pm 7,28$	$56,06 \pm 5,87$
		min...max	59...61	39...63	47...67
		$C_v$	1,68	23,51	18,13
№ 2	Шкіра калитки	$n=5, M \pm m$	$22,21 \pm 0,40$	$17,49 \pm 0,24$	$20,70 \pm 0,27$
	Яєчко	$n=5, M \pm m$	$28,15 \pm 1,70$	$21,46 \pm 0,27$	$19,90 \pm 0,29$
	Білкова оболонка яєчка	$n=5, M \pm m$	$22,80 \pm 0,10$	$24,66 \pm 0,66$	$22,16 \pm 0,65$
		$n=3, M \pm m$	$24,39 \pm 1,89$	$21,20 \pm 2,07$	$20,92 \pm 0,66$
		min...max	22...23	17...25	20...22
		$C_v$	13,42	16,94	5,48
		$P_{2:1}$	< 0,001	< 0,02	< 0,01
№ 3	Шкіра калитки	$n=5, M \pm m$	$9,28 \pm 0,23$	$7,90 \pm 0,22$	$13,31 \pm 0,16$
	Яєчко	$n=5, M \pm m$	$6,58 \pm 0,34$	$13,08 \pm 0,28$	$8,15 \pm 0,13$
	Білкова оболонка яєчка	$n=5, M \pm m$	$5,07 \pm 0,19$	$13,51 \pm 0,34$	$15,92 \pm 0,25$
		$n=3, M \pm m$	$6,98 \pm 1,23$	$11,53 \pm 1,77$	$12,46 \pm 2,28$
		min...max	5...9	8...14	8...16
		$C_v$	30,57	26,64	31,73
		$P_{3:2}$	< 0,001	< 0,02	< 0,02
№ 4	Шкіра калитки	$n=5, M \pm m$	$9,42 \pm 0,44$	$35,30 \pm 0,41$	$11,26 \pm 0,30$
	Яєчко	$n=5, M \pm m$	$4,35 \pm 0,26$	$2,72 \pm 0,05$	$5,12 \pm 0,10$
	Білкова оболонка яєчка	$n=5, M \pm m$	$11,46 \pm 0,50$	$2,91 \pm 0,15$	$15,28 \pm 0,53$
		$n=3, M \pm m$	$8,41 \pm 2,11$	$13,64 \pm 10,83$	$10,55 \pm 2,95$
		min...max	4...11	3...35	5...15
		$C_v$	43,53	137,47	48,48
		$P_{4:3}$	> 0,5	> 0,55	> 0,5
		$\Sigma C_1...C_4$	99,97	100,00	99,99

- 10 свідчать, що її середні значення у ФВЕ тканин шкіри калитки, яєчка і білкової оболонки яєчка становлять: № 1 - 54-60 %, № 2 - 21-24 %, № 3 - 7-12 %, № 4 - 8-14 %.

- Тобто, відношення концентрацій у вказаних фракціях формує ряд, у якому  $C_1 > C_2 > C_3 \geq C_4$ . При цьому різниця між мінімальними і максимальними значеннями показників концентрації у ФВЕ № 1-3 становить 3-6 %. Тому вірогідність її змін є меншою за 0,02-0,001. Однак визначені у ФВЕ № 4 високі значення концентрації  $Ca^{2+}$  (9-11 %) та  $Na^+$  (11-15 %), які у тканинах шкіри калитки і білкової оболонки яєчка зв'язані з нерозчинними у воді комплексними сполуками і  $K^+$  (35 %) у тканинах шкіри калитки, призводять до того, що вірогідність її змін більша за 0,5.

- Запропонований спосіб визначення концентрації  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ , одержані результати якого узгоджуються з базовими постулатами теорії дисоціації сильних і слабких електролітів у водному середовищі на іони [5], можна використовувати для вивчення особливостей перебігу фізико-біохімічних процесів у пробах тканин органів людини, тварин і рослин.

Джерела інформації:

1. Патент РФ на винахід № 5010738/14, МПК G01N33/48; опубл. 10.06.1997.

2. Патент РФ на винахід № 2030744, МПК G01N31/16; опубл. 10.03.1995.
3. Патент України на винахід № 21530А, МПК G01N33/48; опубл. 16.12.1997.
4. Патент РФ на винахід №2101696, МПК G01N27/42, G01N21//00; опубл. 10.01.1998.
5. Пилипенко А. Т., Пятницкий И. В. Аналитическая химия в 2-х Т.// Москва: Химия, 1990. - 846с.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 10 Спосіб визначення концентрації іонів у пробах біологічного матеріалу, що включає встановлення вмісту іонів макро- і мікроелементів, який **відрізняється** тим, що методом полуменевої і/або атомно-адсорбційної фотометрії в розділених на окремі фракції водних екстрактів проб біологічного матеріалу визначають абсолютні та відносні показники концентрації вільних і зв'язаних іонів макро- та мікроелементів.

---

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601