

концентрація свинцю і міді збільшилась приблизно в 17 разів, а вміст цинку збільшився майже в 21 раз. "Стрибок" вмісту важких металів в Т. 4 відображує, на наш погляд, негативних вплив поверхневої стоку з вулиць та територій підприємств міста.

З метою визначення впливу довших відкладень на якість води р. Стрижень (на кисневий режим, можливість вторинного забруднення біогенними речовинами та важкими металами) вважаємо за доцільне подальше проведення досліджень в цьому напрямку.

Базуючись на аналізі сучасного стану річки та джерел забруднення можна прогнозувати подальше погіршення екологічного стану річки та деградацію її екосистем, яка може проявитися в збідненні видового складу біоти річки, збільшенні її евтрофікації і подальшому накопиченню відкладів мулу, які можуть виступати джерелом вторинного забруднення.

УДК 577.41: 597.554.3

В.О. Хоменчук, В.В. Грубінко

Тернопільський державний педагогічний університет ім. Володимира Гнатюка, м. Тернопіль

КІНЕТИКА ПОГЛИНАННЯ ІОНІВ МІДІ ЗЯБРАМИ КОРОПА В УМОВАХ IN VITRO

Сьогодні добре вивчено такі аспекти впливу важких металів на організми як тканинні особливості їх накопичення, внутрішні та зовнішні чинники проникнення у клітини, метаболічні порушення, які спричиняються даними токсикантами. Разом з тим механізми проникнення важких металів досліджено недостатньо, хоча існує багато різноманітних моделей та гіпотез, які досить по різному підходять до пояснення механізмів надходження іонів металів [4,6]. Тому, досить актуальними є питання про те, який тип транспорту використовується при проникненні важких металів в організм — звичайна дифузія чи оціосередкований перенос, кількісні характеристики енерговитрат процесів проникнення та детоксикації, які математичні моделі є найоптимальнішими для вивчення трансформації важких металів.

Матеріали та методи досліджень

Вивчали концентрації (0,01 мг/л, 0,05 мг/л, 0,1 мг/л, 0,15 мг/л та 0,2 мг/л), часову (1 хв, 5 хв, 15 хв, 30 хв та 60 хв) та температурну (5°C, 12°C, 18°C та 25°C) модуляцію проникнення іонів міді ізольованими зябрами коропа лускатого. Іони міді вносили в вигляді сульфату. Як інкубаційне середовище використано розчин Рінгера для холоднокровних — NaCl (129,6 мМ), CaCl₂ (1,8 мМ), NaHCO₃ (2,5 мМ), KCl (2,7 мМ), H₂O. Співвідношення маси тканини до об'єму досліджуваного розчину становило 1:10. Після інкубації зябра промивали 2-3 рази чистим розчином Рінгера. Вміст міді визначали методом атомно-адсорбційної спектрофотометрії на С-115, попередньо спаливши тканини в перегнаний концентрованої азотній кислоті в співвідношенні 1:5 (маса об'єм). Концентрацію металу в тканинах перераховували на кількість білку, рівень якого визначали за методом Лоурі [5]. Отримані результати опрацьовували статистично [2]. Величини константи Міхаеліса (K_M) і максимальної швидкості реакції (V_{max}) були розраховані графічно методом подвійних зворотних величин. Енергію активації (E_{акт}) визначали з допомогою графічного способу Ареніуса [1].

Результати і обговорення

Аналіз концентраційної залежності поглинання іонів міді і в зябрових клітинах і в еритроцитах крові вказує на наявність ефекту насичення поглинання і в зябрах і в еритроцитах на рівні 0,1 мг/л (рис 1). За фазою насичення настає фаза пригнічення. Такий тип кінетичних кривих говорить про участь мембранних структур у поглинанні Cu²⁺. Методом подвійних зворотних величин було встановлено, що константа Міхаеліса становить 0,33 мкмоль⁻¹, а максимальна швидкість реакції 0,083 мкмоль мг⁻¹ білка хв⁻¹ (рис 2). Це вказує на досить високу спорідненість мембранних переносників до іонів міді, в той час як максимальна швидкість надходження металу є порівняно низькою. Можливо, транспорт здійснюється через йонні канали, діяльність яких або вичерпується енергетично, або йони міді насичують їх шляхом зв'язування вільними — SH-групами інтегральних білків. Це вказує на дифузний характер проникнення Cu²⁺, однак, регульованій структурно-функціональною активністю мембран.

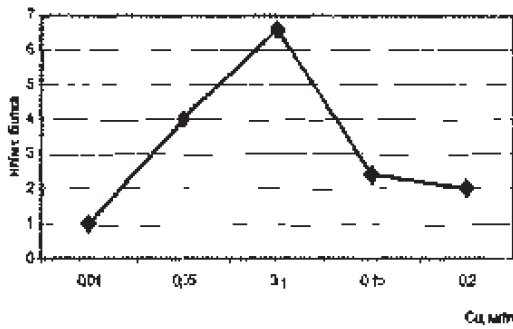


Рис.1. Швидкість поглинання іонів міді зябрами коропа *in vitro* залежно від її концентрації (18 °С, 30 хв)

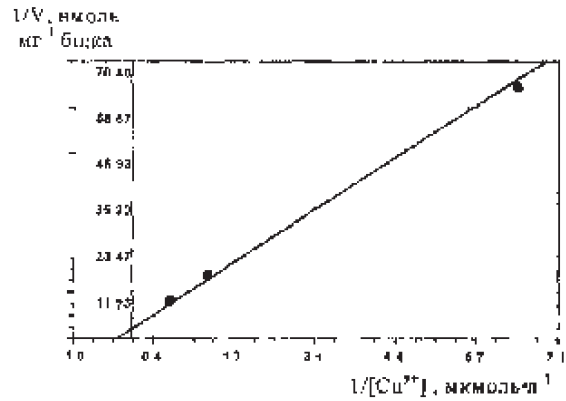


Рис. 2 Поглинання іонів Cu^{2+} ізольованими зябрами коропа в системі координат Лайнуівера-Берка

При аналізі залежності поглинання від температури (Рис 3), звертає увагу на себе високий рівень поглинання іонів міді при низьких (до 12°C) температурах. Очевидно в даному випадку проявляється основна характеристика, встановлена для ферментів різних тварин — зниження спорідненості ферменту до субстрату при підвищенні температури. Екологічна обумовленість даного процесу проявляється в тому, що мінімальне значення K_m спостерігається при температурі, що відповідає нижній межі існування [3] Одночасно поглинання при 18°C оптимальної температури для риб, є мінімальним. Енергія активації, розрахована графічно, становить 4,9 кДж/моль. Отримані результати свідчать про різні механізми транспорту Cu^{2+} при різних температурах. Щодо низьких і високих температур, то відомо, що вони викликають просторову модифікацію мембранних білків, що, очевидно, сприяє більшій проникності мембран для іонів міді. Стабільність мембран при оптимальній температурі очевидно, є фактором їх захищеності від токсиканту.

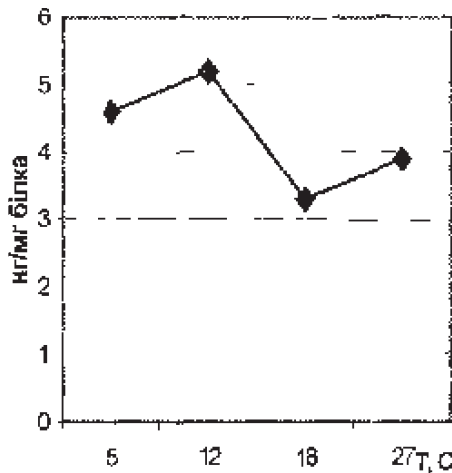


Рис.3 Накопичення іонів міді зябрами коропа *in vitro* залежно від температури (30 хв, 0.125 мг/л)

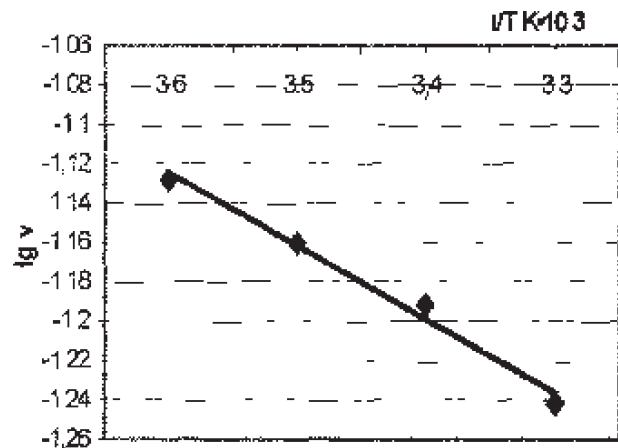


Рис.4. Графік Арренюса для накопичення іонів міді зябрами

Математична обробка даних залежності поглинання зябрами міді від часу показує, що основна частина металу проникає в клітину за 1 хвилину інкубації. В подальшому процес поглинання сповільнюється і носить лінійний характер. Можна припустити, що при збільшенні часового діапазону пройде або вирівнювання градієнта концентрації з обох боків мембрани, або активуватимуться адаптаційні механізми регуляції вмісту металу в клітині.

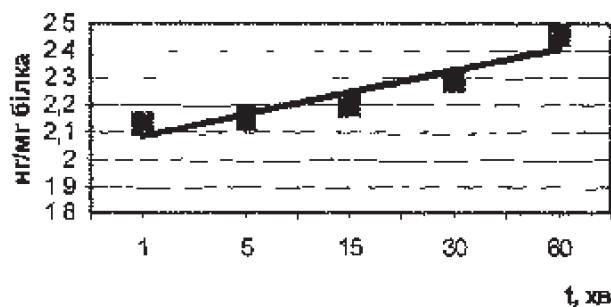


Рис. 5 Накопичення іонів міді зябрами коропа за часом в часовому градієнті (18° С, 0,125 мг/л)

В загальному можна відмітити високу спорідненість іонів міді до мембранних структур зябер і процес поглинання іонів міді починається при близьких до нуля концентраціях. При підвищенні концентрації металу чи збільшенні часу інкубації проходить сповільнення процесу трансформації іонів міді, виходячи з чого можна сказати, що транспорт іонів міді через зябра проходить опосередкованим шляхом. При цьому енергетичні аспекти даного процесу потребують більш детального вивчення.

ЛІТЕРАТУРА

- 1 Диксон М, Уэбб У Ферменты — М Мир, 1982 — Т 1 — 392 с
- 2 Лакін Г Ф Биометрия Учебное пособие для биол спец вузов 4 е изд, перераб и доп — М Высш шк, 1990 — 352 с
- 3 Мур Дж, Рамамурти С Тяжелые металлы в природных водах — М Мир, 1987 — 265 с
- 4 Walton, M G, Sibly, G R, Hayton, W L Pharmacokinetic modeling in aquatic animals I Models and concepts // Aquat Toxicol — 1990 — Vol 18 — P 61–86
- 5 Loury O H, Rosebrough N J, Farr A L, Randall R J Protein measurement with the Folin phenol reagent // J Biol Chem — 1951 — Vol 191 № 1 — P 265—275
- 6 Yang R, Thurston V, Newman J, Randall D J A physiological model to predict xenobiotic concentration in fish // Aquatic Toxicology — 2000 — Vol 48 — P 109–117

УДК 574.64 (282.247.32)

Т.Н. Шаповал, И.Г. Куля

Институт гидробиологии НАН Украины, г. Киев

СОДЕРЖАНИЕ НЕФТЕПРОДУКТОВ В ВОДЕ И ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ ДНЕПРОВСКИХ ВОДОХРАНИЛИЩ

Среди многочисленных загрязнителей водных экосистем особое место занимают нефть и нефтепродукты. При наличии этих веществ выше определенных концентраций (рыбохозяйственная ПДК равняется 0,3 мг/л) угнетается жизнедеятельность гидробионтов и ухудшается качество воды.

Источником загрязнения нефтью и нефтепродуктами являются сточные воды с нефтепромыслов и нефтеперерабатывающих заводов, водный транспорт, нефтебазы, выбрасывающие большие объемы сточных вод, содержащих высокие концентрации загрязнителя, дождевые воды, смывающие их с территории населенных пунктов, жилищно-строительных, металлообрабатывающих и других предприятий. В аварийных ситуациях нефть может поступать непосредственно из нефтепроводов, нефтеналивных барж и танкеров. Около 40 % нефтепродуктов, которые попадают в водохранилища, остаются в виде эмульсии, столько же оседает на дно и 20 % образует на поверхности пленку. Покрывая поверхность воды, тяжелые фракции и эмульсия нефти затрудняют движение, дыхание и питание мелких гидробионтов, а также оказывают губительное воздействие на высшие организмы, включающие преимущественно гидробионтов, находящихся на ранних стадиях онтогенеза.

Углеводороды, растворенные в воде, проникая в листья и стебли растений могут нарушать строение межклеточных мембран, которые регулируют процессы, связанные с обменом веществ, а также легко достигают незащищенных поверхностей водных животных (эпителий жабер рыб).

Нефтепродукты, которые осели в донных отложениях, отсекают флору и фауну дна от другой части водохранилища и становятся причиной "вторичного" загрязнения воды. Следует отметить, что тяжелые фракции нефти и тяжелые нефтепродукты не обладают сильным действием на организм, однако