

БІОХІМІЯ

УДК 546.732: (597.551.2+597.552.1): 612.1

doi: 10.25128/2078-2357.24.3–4.2

Н. О. ВОВЧЕК

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль 46027
e-mail: natvovchek@ukr.net

ВПЛИВ СУБЛЕТАЛЬНИХ КОНЦЕНТРАЦІЙ ІОНІВ КОБАЛЬТУ (II) НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ В ОРГАНІЗМІ ПРІСНОВОДНИХ РИБ

У роботі досліджено зміни окремих біохімічних показників (вміст глюкози, лактату, пірувату, активність лактатдегідрогенази) у крові карася сріблястого (*Carassius gibelio* Bloch.) та щуки звичайної (*Esox lucius* L.) за дії 0,1 та 0,25 мг/дм³ іонів Co²⁺ у воді. Показано, що зміни гематологічних показників крові риб мають видову специфіку та залежать від концентрації іонів металу у водному середовищі. Вміст металу у крові обох видів риб не змінювався за дії сублетальних концентрацій іонів кобальту, проте в карася був на порядок нижчим як у щуки. Встановлено зростання концентрації глюкози в обох видів риб за впливу обох концентрацій кобальту. Концентрація лактату у крові карася зростала за дії 0,1 мг/дм³ та за дії 0,25 мг/дм³ іонів металу – у щуки. Концентрація пірувату у крові карася зростала за 0,25 мг/дм³ іонів Co²⁺ у воді та пропорційно до концентрації іонів металу у воді знижувалася у крові щуки. Відзначено позитивну кореляцію між співвідношенням лактат/піруват та активністю лактатдегідрогенази у крові обох видів риб за дії підвищених концентрацій іонів кобальту. Встановлено, що у щуки за високих концентрацій іонів кобальту у воді (0,25 мг/дм³) зростає роль гліколітичних процесів в енергозабезпеченні організму.

Ключові слова: щука, карась, кров, кобальт.

Забруднення гідроекосистем важкими металами стало глобальною екологічною проблемою, яка загрожує як гідробіонтам, так і здоров'ю людей. Зростає воно через індустріалізацію, зміну клімату та урбанізацію [4, 9]. Особливо актуальною проблема постала для України після російського вторгнення [1].

Іони важких металів у підвищених концентраціях є токсичними, потенційно канцерогенними та можуть біоакумулюватися в біологічних системах [3]. Серед них розрізняють біогенні (есенціальні) та токсичні (неесенціальні).

Кобальт є важливим біогенним елементом, оскільки входить до складу вітаміну B₁₂ (кобаламіну), який відіграє ключову роль у метаболізмі, бере участь у синтезі ДНК та утворенні червоних кров'яних клітин організму [7].

Як правило, дефіцит B₁₂ призводить до поганого росту, анемії та зменшення споживання корму рибами [5].

Однак кобальт у концентраціях, які перевищують природні фонові рівні, може накопичуватися у тканинах риб та порушувати метаболічні процеси в їх організмі [9].

Для оцінки якості води часто застосовують методи біоіндикації та біотестування, використовуючи риб як чутливий індикатор забруднення [11]. Тому розробка та вдосконалення методів оцінки токсичності водного середовища є актуальним завданням науковців.

Система крові риб відображає реакцію їх організму на дію токсичних чинників [10], проте зміни гематологічних показників можуть бути різноманітними та не завжди специфічними для конкретного виду риб.

Тому метою нашого дослідження було здійснити порівняльну характеристику змін окремих біохімічних показників крові риб (карася та щуки) за дії підвищених концентрацій іонів Co^{2+} у воді.

Матеріали та методи досліджень

Для експериментальних досліджень було використано поширені прісноводні види: риб карась сріблястий (*Carassius gibelio* Bloch.) і щука звичайна (*Esox lucius* L.) середньою масою 200–220 г та 150–170 г відповідно. Вивчали вплив кобальту у двох концентраціях – 2 і 5 ГДК, що в перерахунку на іони становило 0,1 та 0,25 мг/дм³. Метал у вигляді кобальт хлориду додавали у воду акваріумів об'ємом 200 дм³, де знаходилися дослідні групи риб (по п'ять особин у кожному). Воду в акваріумах змінювали щодоводово. Аклімацію риб здійснювали протягом 14 діб.

Після зазначеного терміну відбирали кров із серця риб. Для одержання плазми гепаринізовану кров центрифугували 20 хвилин при 3000 об/хв. Визначали концентрацію кобальту, лактату та пірувату у крові, вміст глюкози та активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) у плазмі крові риб.

Для визначення вмісту металу проби крові спалювали у нітратній кислоті у співвідношенні 1:5 (об'єм : об'єм). Вміст металу визначали на оптичному спектрометрі з індуктивно-зв'язаною плазмою «iCAP 6300 DUO» (США).

Вміст глюкози у плазмі крові риб визначали за допомогою глюкозооксидазного методу з використанням набору реактивів Глюкоза – 200. Цей метод базується на реакції глюкози з глюкозооксидазою, у результаті чого утворюються глюконова кислота та перекис водню. Перекис водню окиснює хромоген, перетворюючи його на забарвлену сполуку, інтенсивність фарбування якої пропорційна концентрації глюкози в пробі.

Піруват та лактат для визначення екстрагували із крові риб крижаною 6 % хлорною кислотою та після нейтралізації визначали ферментативно з використанням препарату лактатдегідрогенази [2]. Її активність (L-лактат: НАД оксидоредуктаза КФ 1.1.1.27) у плазмі крові риб визначали за швидкістю окиснення НАДН, яку реєстрували за зменшенням величини оптичної густини при 340 нм [12].

Усі дослідження проводили з дотриманням суворих етичних норм, встановлених Європейською конвенцією про гуманне ставлення до лабораторних тварин. Усі одержані дані оброблено статистично з використанням пакету «Microsoft Office Excel».

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз результатів показав, що гематологічні показники крові риб мали видову специфіку. Так, вміст металів у крові обох видів риб практично не змінювався за дії досліджуваних концентрацій іонів кобальту. Водночас слід відзначити, що у карася він був на порядок нижчим як у щуки (рис. 1).

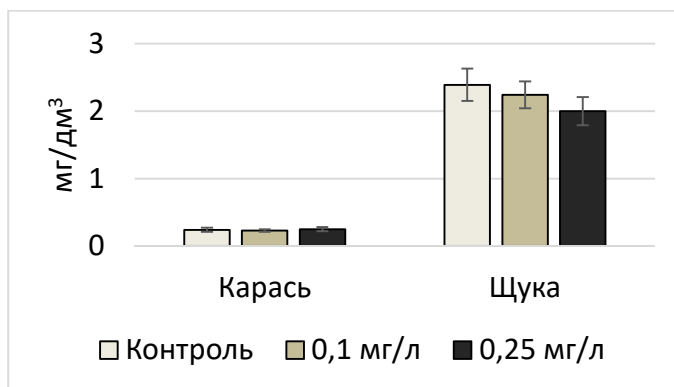


Рис. 1. Вміст кобальту у крові риб за дії сублетальних концентрацій кобальту ($M \pm m$, $n=5$).

Вміст глюкози у крові контрольної групи карасів становив 5,2, а у щуки 4,6 ммоль/дм³ (рис. 2). За впливу 0,1 та 0,25 мг/дм³ іонів кобальту у воді концентрація глюкози у крові риб зростала відповідно в 1,3 та у 1,1 разів у карасів і в 1,2 та 1,4 разів у щуки. Ймовірно, це обумовлено зростанням енерговитрат організму риб для протидії токсичному чиннику. Відомо [8], що підвищення рівня глюкози в крові є ознакою стресу.

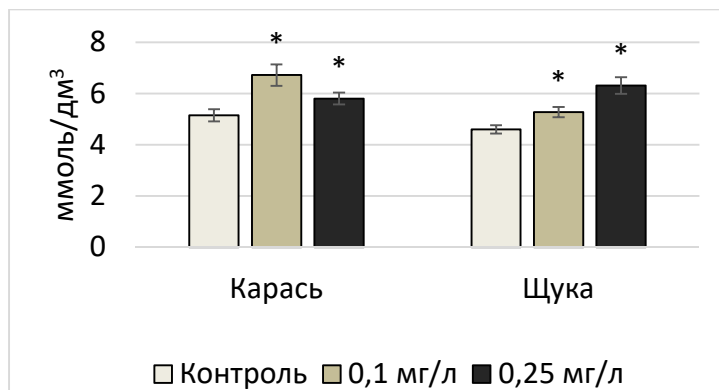


Рис. 2. Концентрація глюкози у плазмі крові риб за дії сублетальних концентрацій кобальту ($M \pm m$, $n=5$).

Концентрація лактату у крові карася контрольної групи риб була вищою порівняно зі щукою: 1,6 та 1,2 ммоль/дм³ відповідно (рис. 3). Це, ймовірно, обумовлене різним метаболізмом у бентофагів та хижих риб.

Вміст лактату в крові риб дослідних груп насамперед залежав від концентрації іонів металу в середовищі. Концентрація молочної кислоти в крові карася зростала в 1,4 раза за дії 0,1 мг/дм³ та поверталася до контрольних значень при 0,25 мг/дм³ іонів Co^{2+} у воді. У крові щуки вміст лактату практично не змінювався за 0,1 мг/дм³ іонів кобальту та зростав у 1,5 раза за дії 0,25 мг/дм³ іонів металу, що може бути обумовлене активізацією анаеробних процесів.

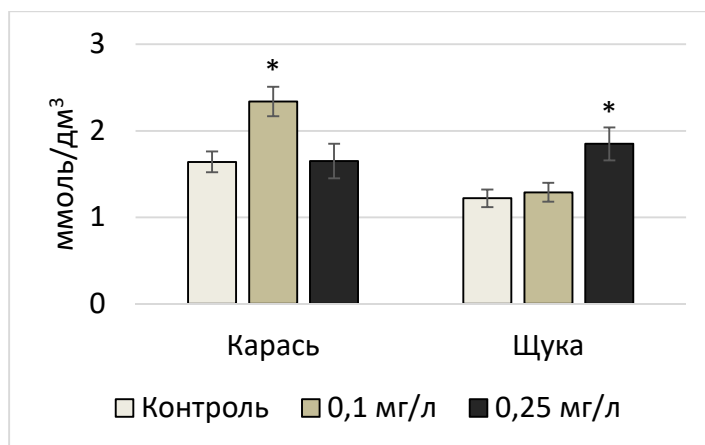


Рис. 3. Концентрація лактату у крові риб за дії сублетальних концентрацій кобальту ($M \pm m$, $n=5$).

Концентрація піровиноградної кислоти в крові контрольних груп карася та щуки становила 90,5 та 135,4 мкмоль/дм³ відповідно (рис. 4). Вміст пірувату в крові риб за дії меншої концентрації іонів кобальту практично не змінювався. Вплив 0,25 мг/дм³ іонів металу призводив до зростання кількості цього метаболіту в крові карася в 1,6 раза та зменшення його концентрації в 1,3 раза в щуки.

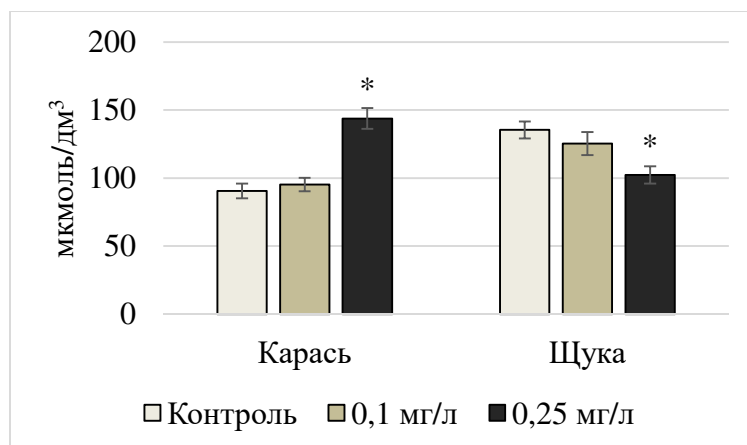


Рис. 4. Концентрація пірувату в крові риб за дії сублетальних концентрацій кобальту ($M \pm m$, $n=5$).

Зростання співвідношення концентрації лактату до пірувату в крові може мати важливе діагностичне значення та свідчити про активацію анаеробних процесів в організмі тварин [6]. Співвідношення лактат/піруват у крові карася зросло у 1,3 раза за дії 0,1 мг/дм³ та зменшувалося у 1,6 раза за 0,25 мг/дм³ іонів металу (рис. 5). Відношення концентрацій молочної кислоти до піровиноградної в крові щуки було меншим порівнюючи з карасем. Було виявлено тенденцію зростання цього показника в крові щуки пропорційно концентрації іонів кобальту у воді.

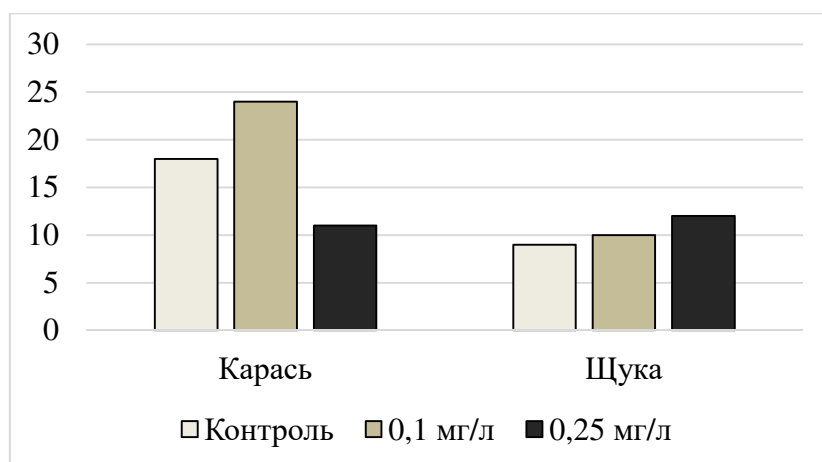


Рис. 5. Відношення концентрації лактат/ піруват у крові риб за дії сублетальних концентрацій кобальту ($M \pm m$, $n=5$).

Аналіз активності лактатдегідрогенази (ЛДГ) у плазмі крові риб (рис. 6) показав позитивну кореляцію цього показника із співвідношенням лактат/піруват. Так, активність фермента у крові карася зростала в 1,6 раза за дії 0,1 мг/дм³ та знижувалася у 2,3 раза за 0,25 мг/дм³ іонів металу. У плазмі крові щуки активність ЛДГ зростала із збільшенням концентрації металу у воді, що може бути наслідком токсичного стресу.

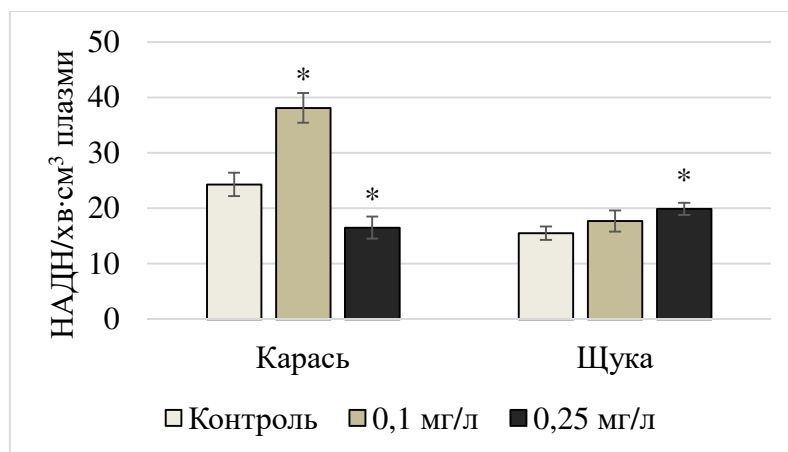


Рис. 6. Активність лактатдегідрогенази у крові риб за дії сублетальних концентрацій кобальту (мкмоль НАДН/хв·мл плазми, $M \pm m$, $n=5$).

Отже, під час дослідження виявлено видові особливості реакцій риб на вплив сублетальних концентрацій кобальту у воді. У щуки за високих концентрацій іонів кобальту у воді (0,25 мг/дм³), на відміну від карася, зростає роль анаеробних процесів енергозабезпечення організму про що свідчить зростання концентрації лактату та активності ЛДГ разом зі зниженням кількості пірувату. У карася виявлено активацію анаеробного метаболізму за нижчої (0,1 мг/дм³) концентрації іонів металу у воді.

1. Afanasyev S. O. Impact of War on Hydroecosystems of Ukraine: Conclusion of the First Year of the Full-Scale Invasion of Russia (a Review). *Hydrobiological Journal*. 2023. Vol. 59. No. 4. P. 3–16. URL: <https://doi.org/10.1615/HydrobJ.v59.i4.10>.
2. Dando P. R. Lactate Metabolism in Fish. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 1969. Vol. 49(1). P. 209–223.
3. DeForest D. K., Brix K. V., Adams W. J. Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: The inverse relationship between bioaccumulation factors, trophic transfer factors and exposure concentration. *Aquatic Toxicology*. 2007. Vol. 84, No. 2. P. 236–246. URL: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.02.022>.
4. Heavy metal pollution in the aquatic environment: efficient and low-cost removal approaches to eliminate their toxicity: a review / K. H. Hama Aziz et al. *RSC Advances*. 2023. Vol. 13, No. 26. P. 17595–17610. URL: <https://doi.org/10.1039/d3ra00723e>.
5. Nutrient composition of important fish species in Bangladesh and potential contribution to recommended nutrient intakes / J. R. Bogard et al. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2015. Vol. 42. P. 120–133. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.03.002>.
6. Padmavathy P., Ramanathan N., Francis T. Glucose, Lactate and Pyruvate Metabolism in Labeo rohita with Reference to Ambient Oxygen. *Asian Fisheries Science*. 2003. Vol. 16, No. 1. URL: <https://doi.org/10.33997/j.afs.2003.16.1.006>.
7. Perrault J. R., Buchweitz J. P., Lehner A. F. Essential, trace and toxic element concentrations in the liver of the world's largest bony fish, the ocean sunfish (*Mola mola*). *Marine Pollution Bulletin*. 2014. Vol. 79, No. 1-2. P. 348–353. URL: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.11.026>.
8. Reproducible 1H NMR-Based Metabolomic Responses in Fish Exposed to Different Sewage Effluents in Two Separate Studies / L. M. Samuelsson et al. *Environmental Science & Technology*. 2011. Vol. 45, No. 4. P. 1703–1710. URL: <https://doi.org/10.1021/es104111x>.
9. Simonsen L. O., Harbak H., Bennekou P. Cobalt metabolism and toxicology—A brief update. *Science of The Total Environment*. 2012. Vol. 432. P. 210–215. URL: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.06.009>.
10. The Alterations in the Hematological Parameters of Brown Trout *Salmo trutta fario*, Exposed to Cobalt Chloride / M. Atamanalp et al. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2010. Vol. 9, No. 16. P. 2167–2170. URL: <https://doi.org/10.3923/javaa.2010.2167.2170>.
11. Van der Oost R., Beyer J., Vermeulen N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2003. Vol. 13, No. 2. P. 57–149. URL: [https://doi.org/10.1016/s1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/s1382-6689(02)00126-6).
12. Vanderlinde R. E. Measurement of total lactate dehydrogenase activity. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 1985. Vol. 15(1). P. 13–31.

N. O. Vovchek

Ternopil Volodymyr Hnatyuk National Pedagogical University, Ukraine

INFLUENCE OF SUBLETHAL CONCENTRATIONS OF COBALT (II) IONS ON HEMATOLOGICAL INDICATORS IN THE ORGANISM OF FRESHWATER FISH

The study examined changes in selected biochemical indicators (glucose, lactate, pyruvate levels, and lactate dehydrogenase activity) in the blood of crucian carp (*Carassius gibelio* Bloch) and pike (*Esox lucius* L.) exposed to 0.1 and 0.25 mg/dm³ of Co²⁺ ions in water. The results demonstrated that changes in the hematological parameters of fish are species-specific and depend on the concentration of metal ions in the aquatic environment.

Despite exposure to sublethal concentrations of cobalt ions, the metal content in the blood of both fish species remained unchanged; however, in crucian carp, it was an order of magnitude lower than in pike. An increase in glucose concentration was observed in both species at both cobalt concentrations. Lactate levels in crucian carp increased under 0.1 mg/dm³ exposure, whereas in pike, they rose at 0.25 mg/dm³. Pyruvate concentration in crucian carp increased at 0.25 mg/dm³, whereas in pike, it decreased proportionally to the cobalt concentration in water.

A positive correlation was observed between the lactate/pyruvate ratio and lactate dehydrogenase activity in the blood of both species at elevated cobalt concentrations. These findings suggest that in pike, at higher cobalt concentrations (0.25 mg/dm³), glycolytic processes play an increased role in the organism's energy supply.

Key words: pike, crucian carp, blood, cobalt.

Надійшла 29.11.2024.

UDC 547.458:664.16

doi: 10.25128/2078-2357.24.3–4.3

¹KHMELIAR INESA, ¹KUSHNIR LESIA, ²VOLODYMYR TKACH

¹Municipal establishment of higher education "Rivne Medical Academy"

St. Karnaukhova, 53, Rivne, 33000

²Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University

St. Kotsiubynskoho, 2, Chernivtsi, 58002

STUDY OF SUCRALOSE CONTENT IN CARBONATED DRINKS OF DIFFERENT MANUFACTURES

It was established that spectroscopic and chromatographic methods of analyzing were used to determine sucralose. Given that the spectroscopic method of analysis requires specific preparation of samples is insufficiently accurate and sensitive, and the chromatographic method is expensive, the electro-analytical method of determination was chosen for the research. This is justified by the structure of the molecule (it contains functional groups that can be oxidized electrochemically). Electrochemical experiments were carried out using a potentiostat-galvanostat on a three-electrode setup with a glassy carbon electrode as a working electrode, a platinum electrode as an auxiliary electrode and a silver chloride electrode for comparison. The study utilized non-carbonated beverages Continente (Portugal) and Xixo (Hungary), as well as carbonated beverages Sumol Zero (Portugal) and Fanta Shokata (Ukraine). The manufacturer indicated the presence of sucralose in all of them. Based on the conducted research and corresponding calculations, it was established that the beverages are safe for consumption.

Natural processes of photo-, photoelectro-, and electrodegradation in soil and wastewater reduce the problems of sucralose accumulation in the environment. Therefore, to prevent diffusion to the anode space with the release of gaseous chlorine, membrane electrolysis is applied (the membrane is made of polyvinylpyridine), which separates the cathode and anode spaces and does not allow chloride ions to reach the anode. In this case, water electrolysis or electrooxidation of hydroxyl ions occurs at the anode with the formation of gaseous oxygen.