

¹Р.С.Бареева, ²Л.М.Молодкина¹Военно-медицинская Академия имени С.М. Кирова, Россия, г. Санкт-Петербург²Санкт-Петербургский государственный политехнический университет, Россия, г. Санкт-Петербург

Поверхностные свойства коллоидов мочи здоровых людей и больных мочекаменной болезнью

Методом микроэлектрофореза и поточной ультрамикроскопии в широком диапазоне рН при концентрации NaCl, равной 10^{-3} М, изучены электрокинетические свойства и агрегативная устойчивость коллоидов мочи здоровых людей и больных мочекаменной болезнью (МКБ). Коллоиды мочи здоровых людей характеризуются одинаковой зависимостью электрокинетического (ζ -) потенциала от рН среды, но высокой степенью неоднородности систем по электрокинетическим свойствам; для коллоидов мочи больных МКБ характерны различные зависимости « ζ –рН», но меньшая неоднородность электрокинетических свойств коллоидов каждого образца мочи.

Кинетика коагуляции дисперсных систем, полученных из мочи здоровых доноров, соответствует их электрофоретическим свойствам. Взвешенным частицам мочи здоровых людей свойственны в целом меньшие значения константы Гамакера, чем частицам мочи больных МКБ, что может свидетельствовать об их большем сродстве к воде.

Ключевые слова: мочевые камни, электрокинетический потенциал, кинетика коагуляции.

Введение

Мочекаменная болезнь (МКБ) человека – распространенное заболевание. В настоящее время остается открытым вопрос о причине камнеобразования. Существует два альтернативных подхода к объяснению процесса образования мочевых камней, причем в обоих рассматривается специфическая взаимосвязь присутствующих в моче солей и белков. В одном подходе белки считают коллоидными стабилизаторами кристаллических образований; в результате их адсорбции на поверхности кристаллов повышается растворимость солей. В другом подходе белкам отводится роль матрицы (посторонних зародышей), на которой происходит кристаллизация солей [1, 2].

Несмотря на ключевую роль процесса взаимодействия коллоидных (кристаллоидных) компонентов мочи с растворителем (водой) в агрегативной устойчивости ее дисперсной системы, до сих пор не проводилось сравнения поведения систем мочи здоровых и больных МКБ именно с этих позиций.

Настоящая работа посвящена сравнительному изучению сродства к воде коллоидов мочи здоровых людей и больных МКБ путем сопоставления их электрокинетических свойств и кинетики коагуляции.

Экспериментальная часть

Экспериментальные исследования выполнены на установках, созданных в Санкт-Петербургском государственном политехническом университете. Концентрацию коллоидных частиц определяли на поточном ультрамикроскопе (ПУМ), их электрофоретическую подвижность – на установке для микроэлектрофореза (МЭФ). В обеих установках регистрируется светорассеяние от индивидуальных коллоидных частиц размером свыше 65 нм (при относительном показателе преломления 1,20) в диапазоне их численной концентрации $5 \cdot 10^4 \cdot 5 \cdot 10^8$ см⁻³. Источниками света служат лазеры с длиной волны 0,6328 мкм мощностью 2 мВт. Высокая интенсивность падающего света достигается путем фокусировки лазерного луча диаметром 2,5 мм до 30 мкм. В поточном ультрамикроскопе используется проточная кварцевая кювета (квадратная в сечении), в установке для микроэлектрофореза – видоизмененная ячейка Абрамсона с внутренним сечением капилляра 16 мм x 1,2 мм, длиной 120 мм.

Установки ранее были использованы для изучения электрокинетических свойств и агрегативной устойчивости дисперсий вируса гриппа разных штаммов [3, 4], дисперсных систем питьевых и природных вод г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области [5, 6], минеральных дисперсий [7].

Численную концентрацию коллоидных частиц (ν) в экспериментах рассчитывали как среднее арифметическое из десяти последовательных определений числа частиц, прошедших через счетное поле за некоторое время при известной скорости движения потока. В каждом МЭФ-эксперименте

определяли электрофоретическую подвижность 50 – 80 частиц. Результаты использовали для расчета среднего значения электрофоретической подвижности (U_{cp}), стандартного отклонения (σ_U) и коэффициента вариации ($C_V = \sigma_U / U_{cp}$). Электрокинетический (ζ -) потенциал рассчитывали по значениям электрофоретической подвижности с учетом (либо без учета) поправки на поляризацию двойного электрического слоя (ДЭС).

Относительная погрешность определения концентрации и электрофоретической подвижности коллоидных частиц составляла 10 – 15 %.

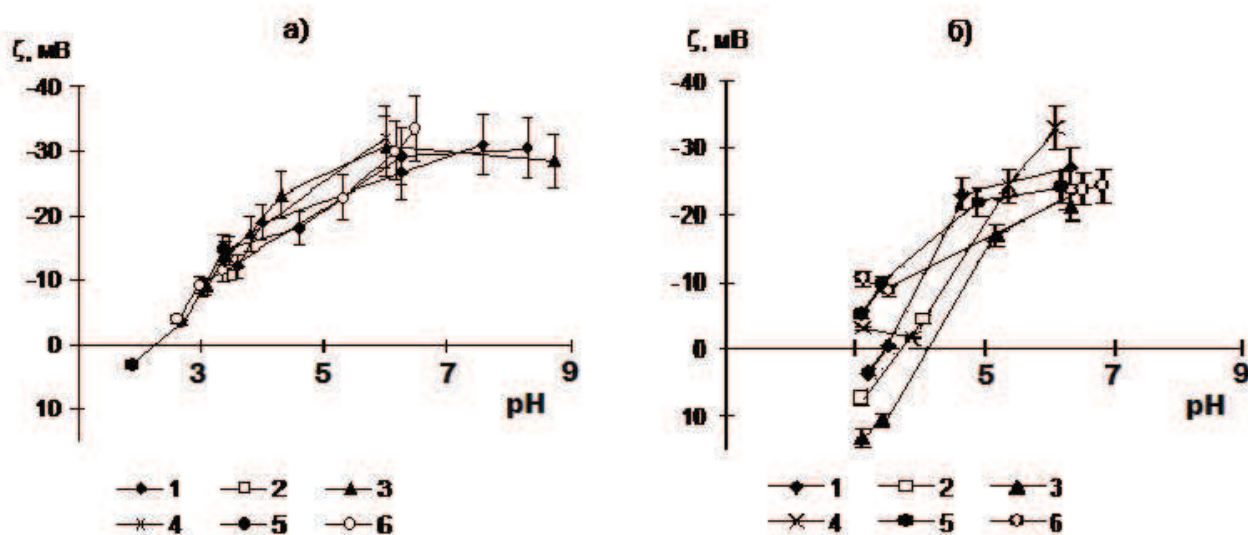
Перед экспериментами дисперсные системы мочи освобождали от избытка растворенных солей (источников образования новых кристаллоидов) с помощью эксклюзионной хроматографии с использованием акрилекса Р6 (пределы фракционирования $10^3 - 6 \cdot 10^3$), либо диализа (предел исключения – $6 \cdot 10^3$). Сформировавшиеся коллоиды всего диапазона размеров и естественный белковый фон при этом сохранялись.

Рабочие дисперсии готовили путем введения обессоленных дисперсных систем мочи в 10^{-3} М растворы NaCl заданной кислотности в соотношении 1:20 или 1:10. Растворы NaCl перед работой обеспыливали с помощью трековых мембран.

Результаты и их обсуждение

Предварительное изучение электрокинетических свойств и кинетики коагуляции коллоидов мочи показало, что при определении численной концентрации коллоидных частиц необходимо проводить оценку «яркости» конусов света, рассеянного на этих частицах, и фиксировать их долю по следующим категориям: «сверхмелкие», «мелкие», «средние», «крупные» и «сверхкрупные» (каждая «фракция» может быть охарактеризована средним размером в предположении одинаковых значений относительных показателей преломления), а также электрофоретическую подвижность частиц следует измерять неоднократно, выбирая время анализа по кинетической кривой коагуляции.

На рисунке 1 представлены экспериментально полученные электрокинетические характеристики коллоидов шести образцов мочи: здоровых людей (№№ 1 – 3) и больных МКБ (№№ 4 – 6), предварительно обессоленных путем диализа (номер образца без индекса) и с помощью эксклюзионной хроматографии (номер образца с индексом «а»).



а) кривые 1, 2 – образец № 1; кривая 3 – № 2; кривая 4 – № 2а; кривые 5, 6 – № 3; время с момента приготовления системы (Δt): 1, 3, 4, 5 – (40 – 85) мин, 2 – 5 час, 6 – (50 – 52) час;

б) кривая 1 – образец № 4; кривая 2 – № 4а; кривые 3, 4 – № 5; кривые 5, 6 – № 6;

Δt : 1, 2, 3, 5 – (40 – 85) мин; 4, 6 – 23 сут.

Рисунок 1 – Зависимости ζ_{cp} – pH для дисперсных систем мочи здоровых людей (а) и больных МКБ (б) в 10^{-3} М растворах NaCl. (Поправка на поляризацию ДЭС не проводилась).

На рисунках 2 и 3 в качестве примеров приведены кинетические кривые коагуляции коллоидов мочи здорового донора (образец № 3) и больного МКБ (образец № 5) в 10^{-3} М растворах NaCl.

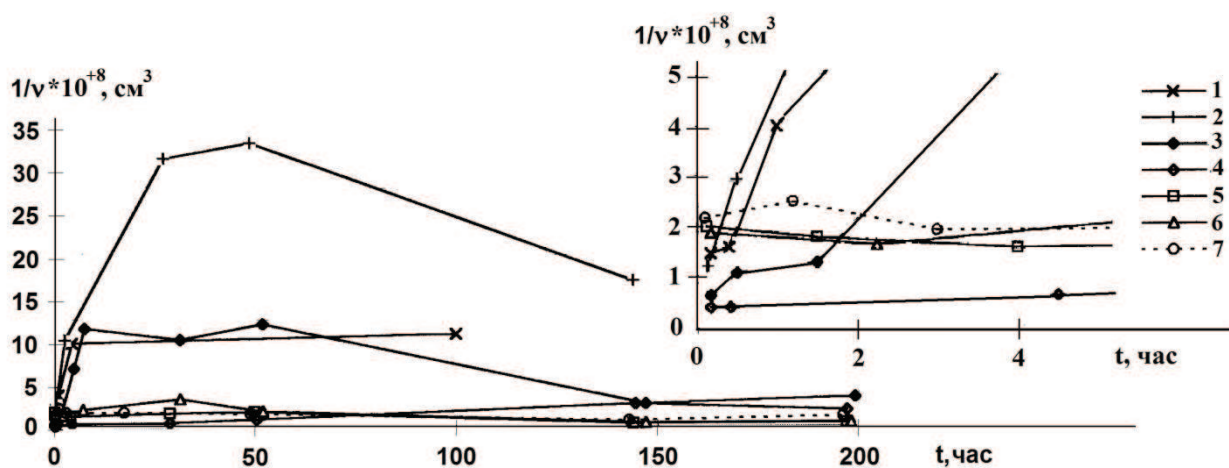


Рисунок 2 – Кинетические кривые коагуляции коллоидов мочи здорового донора (образец №3) в 10^{-3} М растворах NaCl при разных значениях pH: 1,9 (1); 2,7 (2); 3,05 (3); 3,4 (4); 4,3 (5); 6,3 (6); 8,3 (7). На вставке приведены начальные участки кривых

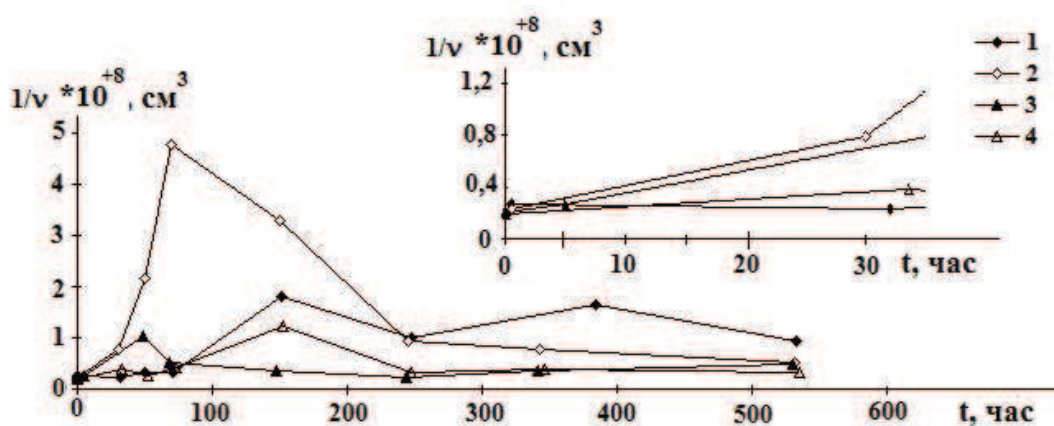


Рисунок 3 – Кинетические кривые коагуляции коллоидов мочи пациента, больного МКБ (образец №5) в 10^{-3} М растворах NaCl при разных значениях pH: 3,1 (1); 3,4 (2); 5,15 (3); 6,3 (4). На вставке приведены начальные участки кривых.

Как видно из рисунка 1а, для разных образцов мочи здоровых людей средние значения электрокинетического потенциала ($\zeta_{\text{ср}}$) ложатся на одну кривую, причем модуль $\zeta_{\text{ср}}$ снижается с уменьшением pH в диапазоне pH 2–6 (ионы H^+ и OH^- – потенциалопределяющие). Изoeлектрическое состояние достигается при $\text{pH} < 3$. Следует отметить, что экспериментальные точки, полученные в первый час после приготовления рабочих систем, отражают свойства коллоидов, сформировавшихся в разное время. Так при pH 4,3 – 8,3 регистрировались частицы, сформированные в момент приготовления системы, размер которых соответствовал примерно 100 нм. При pH 3,05 и 3,35 в первый час после приготовления систем регистрировались сверхмелкие частицы, при этом численная концентрация ν превышала в несколько раз концентрацию частиц, соответствующую pH 4,3 – 8,3 (см. рисунка 2). В области, близкой к изoeлектрическому состоянию (pH 2,7 и 1,9) коагуляция исходных коллоидов происходила настолько интенсивно, что при первом измерении регистрировались уже крупные агрегаты. Тем не менее, из рис. 1 видно, что электрокинетические свойства коллоидных частиц, сформировавшихся при разной кислотности среды в разные моменты времени, подчиняются общей закономерности.

Для систем, приготовленных из образцов мочи разных больных МКБ (рисунок 1б), характерно различное положение изoeлектрических точек, а также отличие наклона кривых « $\zeta_{\text{ср}} - \text{pH}$ ». Длительное хранение дисперсной системы мочи в отдельных случаях сопровождалось изменением не только значений, но и знака $\zeta_{\text{ср}}$ (кривые 3 и 4).

Рассчитанные зависимости стандартного отклонения электрофоретической подвижности (σ_U) от среднего значения ($U_{\text{ср}}$) и коэффициента вариации (C_V) от $U_{\text{ср}}$ показали существенно большую неоднородность по электрокинетическим свойствам дисперсных систем мочи здоровых людей, чем систем мочи больных МКБ. Если для первых отмечено сходство с такими биосистемами как вирус

гриппа [8], то для вторых – с коллоидами полистирольного латекса [9]. Это позволяет предположить, что по природе поверхности коллоиды здоровых доноров ближе к биообъектам (например, содержат больше белковых компонентов).

Анализ данных, представленных на рисунках 2 и 3, а также результатов оценки «яркости» конусов рассеянного света от регистрируемых частиц (см. выше), позволяет предположить, что в дисперсных системах мочи здоровых доноров и больных МКБ, освобожденных от растворенных солей, присутствуют как «видимые» коллоиды (различимые использованными установками), так и «невидимые», которые в соответствующих условиях коагулируют, становятся «видимыми», что приводит к увеличению численной концентрации коллоидов (см. пилообразные участки на кривых коагуляции).

Заключение

Сравнение кинетических кривых коагуляции с электрокинетическими данными для дисперсных систем мочи здоровых людей показало, что в широком диапазоне pH (от 1,9 до 8,75) средние значения ζ -потенциала (в диапазоне $\zeta_{\text{ср}}$ от +3 до –33 мВ) и характер (кинетика) коагуляции коллоидов практически однозначно соответствовали величине pH. Для дисперсных систем мочи больных МКБ отсутствовало четкое соответствие между их поведением при агрегации и значениями электрокинетического потенциала (тем более значениями pH среды). В то же время наблюдалось увеличение размаха колебаний регистрируемой обратной численной концентрации коллоидов мочи при приближении к изоэлектрической точке.

По классическому варианту теории ДЛФО был проведен расчет энергии парного взаимодействия коллоидов «видимого» диапазона (взяв радиус $a = 50$ нм) и «невидимого» диапазона ($a = 25$ нм) для широкого диапазона значений констант Гамакера (A) при использовании значений штерновского потенциала, равных значениям электрокинетического потенциала, рассчитанных с поправкой на поляризацию ДЭС для данных размеров частиц.

Произведено сравнение наиболее вероятных значений константы Гамакера, при которых электрокинетические данные не противоречат характеру (кинетике) агрегации коллоидов мочи. Если не учитывать случаи многозначности (широкий диапазон значений констант Гамакера не противоречит полученным данным), то взаимодействие коллоидов мочи здоровых людей можно характеризовать величиной константы Гамакера порядка $(1 - 5) \cdot 10^{-20}$ Дж, а взаимодействие коллоидов мочи больных МКБ – величиной $A \approx 10^{-19}$ Дж.

Полученное различие можно трактовать с учетом взаимодействия частиц через прослойку растворителя. Поскольку, согласно микроскопической теории, сложные константы A_{121} тем выше, чем больше различается состав веществ дисперсной фазы A_{11} и дисперсионной среды A_{22}
$$\left[A_{121} = \left(\sqrt{A_{11}} - \sqrt{A_{22}} \right)^2 \right] \quad [10],$$
 то можно считать, что поверхность коллоидов мочи больных МКБ является менее гидрофильной, чем поверхность коллоидов мочи здоровых доноров [11].

Предположение о присутствии сверхмелких (изначально невидимых с помощью используемых установок) частиц подтвердилось при анализе мочи методом спектроскопии оптического смещения (ОС). В данной части работы исследованы 3 образца мочи здоровых людей и 11 образцов мочи больных МКБ. Для всех образцов мочи, не зависимо от патологии, были получены бимодальные спектры, причем размер меньшей моды соответствовал диаметру ~ 50 нм.

Литература

- 1 Вайнберг З.С. Камни почек. Москва: Медицина, 1971. – С. 53.
- 2 Томах Ю.Ф. Некоторые физико-химические и биохимические признаки нефролитиаза // Урология и нефрология – 1993. – №6. – С. 19 – 21.
- 3 Молодкина Л.М., Чернобережский Ю.М., Голикова Е.В. Электрокинетические свойства и агрегативная устойчивость наноразмерных биокolloидов – дисперсий вируса гриппа // Физика и химия стекла. – 2005. – Т. 31, № 3. – С. 389 – 400.
- 4 Молодкина Л.М., Голикова Е.В., Чернобережский Ю.М. Особенности кинетики коагуляции дисперсий вируса гриппа // Коллоид. журн. – 2006. – Т. 68, № 5. – С. 1 – 8.
- 5 Молодкина Л.М., Андрианова М.Ю., Полякова А.А. Мониторинг коллоидных примесей водопроводной воды Санкт-Петербурга, являющихся потенциальными токсикантами // Региональная экология – 2002. – № 3/4 (19). – С. 46 – 49.

6 Хаустова Е.В., Андрианова М.Ю., Вовк М.П., Молодкина Л.М., Данилов В.М. Сравнение природной и питьевой воды по дисперсному состоянию примесных компонентов // Формирование технической политики инновационных наукоемких технологий. Научно-практ. конф. и школа-семинар – Сб. трудов. СПб.: Изд-во СПбГПУ, 2004. – С. 78 – 82.

7 Голикова Е.В., Чернобережский Ю.М., Молодкина Л.М., Иогансон О.М. Исследование кинетики безбарьерной коагуляции золь в растворах электролитов // Коллоидн. журн. – 2008. – Т. 70, № 6. – С. 712 – 719.

8 Golicova E.V., Molodkina L.M., Molodkin V.M., Chernoberezhsky Yu.M. Dispersion of the electrophoretics mobility of three influenza virus strains // 9-th Intern. conf. on Surface and Colloid Science : Book of abstr. – Sofia, 1997. – 665. F1. – P. 356 – 357.

9 Ревут Б.И., Усъяров О.Г. Изучение вариации электрокинетического потенциала в растворах электролитов и поверхностно активных веществ // Коллоид. журн. – 1981. – Т.43, №2. – С. 303 – 308.

10 Яминский В.В. Коагуляционные контакты в дисперсных системах. – М.: Химия, 1982. – 184с.

11 Бареева Р.С., Яфясов А.М., Черняков Г.М. Использование миллиметрового излучения сверхслабой интенсивности для исследования камнеобразующих свойств мочи человека // Вестник СПбГУ. – 2004. – Сер. 4, вып. 3. – С. 92 – 95.

Р.С.Бареева, Л.М.Молодкина

Сау адамдар мен несеп тасы ауруымен ауыратын адамдардың зәр коллоидтарының беттік қасиеттері

Микроэлектрофорез және ағындық ультрамикроскопия әдісімен рН-тың кең аралығында, концентрациясы 10⁻³ М NaCl ерітіндісінде сау адамдар мен несеп тасы бар аурумен ауыратын адамдардың зәрлерінің коллоидтарының электркинетикалық қасиеттері мен агрегаттық тұрақтылығы зерттелді. Сау адамдардың зәрлерінің коллоидтары электркинетикалық (ζ) потенциалы ортаның рН мәнімен байланысты бірдей тәуелділікте, алайда электркинетикалық қасиеттері бойынша әртүрліліктің жоғары дәрежесімен сипатталады, ал несеп тасымен ауыратындардың зәрлерінің коллоидтары үшін ζ – рН тәуелділіктері тән, бірақ ол коллоидтардың зәрдің әрбір үлгісіне электркинетикалық қасиеттерінің әртектілігі аз болады.

Сау донорлардың зәрінен алынған дисперсті жүйелердің коагуляция кинетикасы олардың электрофоретикалық қасиеттерінің сәйкес келеді. Несеп тасымен ауыратын адамдардың зәр бөлшектеріне карағанда сау адамдар зәрінің өлшенген бөлшектері Гамакер константасының мәнінен кем болады, ол олардың суға деген ынтықтығымен түсіндіріледі.

Кілттік сөздер: несеп тастары, электркинетикалық потенциал, коагуляция кинетикасы.

R.S.Bareeva, L.M. Molodkina

Surface properties of urine colloids of healthy people and patients with urolithiasis

Applying the microelectrophoresis and flow ultramicroscopy methods within a wide pH range at 10⁻³ M NaCl, electrokinetic properties and aggregative stability of urine colloids of healthy people and patients with urolithiasis have been explored. Urine colloids of healthy people show the same dependence of the electrokinetic (ζ -) potential on the pH medium, but a high degree of heterogeneity in systems by their electrokinetic properties. As for urine colloids of patients with urolithiasis, they show various dependence of ζ – pH but less heterogeneity of electrokinetic properties in colloids of each urine sample.

Coagulation kinetics of disperse systems obtained from the urine of healthy people, is qualitatively consistent with their electrophoretic properties. Suspended particles in the urine of healthy people generally show lower values of the Hamaker constant than those in the urine of patients with urolithiasis, which may evidence their higher affinity for water.

Keywords: urinary calculus, electrokinetic potential, coagulation kinetics.

УДК 631.461.5.631.461.7

А.Э. Курбанбаева

Институт общей и неорганической химии АН РУз, Узбекистан, г. Ташкент

Коллоидно-химические свойства водных растворов биосурфактантов

Выявлены микроорганизмы *Pseudomonas* sp. и *Bacillus* sp., являющиеся эффективными продуцентами биоПАВ, полученными при росте как на гидрофильных (глюкоза), так и на гидрофобных (подсолнечное масло)