

12

Диагностика ферритина в живом веществе методами магнетометрии

© В.Ф. Бабанин, Ю.М. Горовой, А.А. Залуцкий, П.А. Иванов,
А.В. Морозов

Ярославский государственный технический университет
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова
E-mail: vbabanin@bk.ru ivanovpa@ystu.ru

Поступило в Редакцию 8 ноября 2011 г.

Представлены результаты исследования набора живых веществ: растений и илистых фракций почв различных почвенно-климатических зон, микроорганизмов, мышечных тканей птиц и млекопитающих (всего около 200 образцов). Установлено: железо нативных веществ находится в виде наноразмерных частиц гидроксидов (ферригидрит), которые по параметрам мессбауэровских спектров и результатам магнитных измерений могут быть идентифицированы как ядра глобулярного белка ферритина. Измерения выполнены при 290 К, т.е. без использования криогенной техники.

Ферритин — основной железодепонирующий белок млекопитающих. Его определение в крови используют для мониторинга метаболизма в организме, дифференциальной диагностики анемий и развития опухолей [1–3]. Ранее изучение препарата ферритина проводили с помощью магнитных измерений (МИ) и ядерного гамма-резонанса (ЯГР) при температурах от 300 до 0.8 К [1–6]. Применение гелия для ЯГР и МИ требует дорогостоящих специфической аппаратуры и хладагента. При массовых измерениях и большом количестве препаратов, как, например, в медицине при проведении рутинных анализов, такие исследования экономически не выгодны, поэтому используют более простые биохимические методы, которые также имеют свои недостатки.

Целью нашей работы было следующее: 1) определение валентного и спинового состояния атомов железа в слабомагнитном живом нативном веществе; 2) разработка простого метода диагностики суперпарамагнитного ферригидрита без применения гелиевой криогенной техники.

Объектами исследования были выбраны воздушно-сухие или высушенные при 105°C растения (содержание железа в них $\leq 0.1\%$),

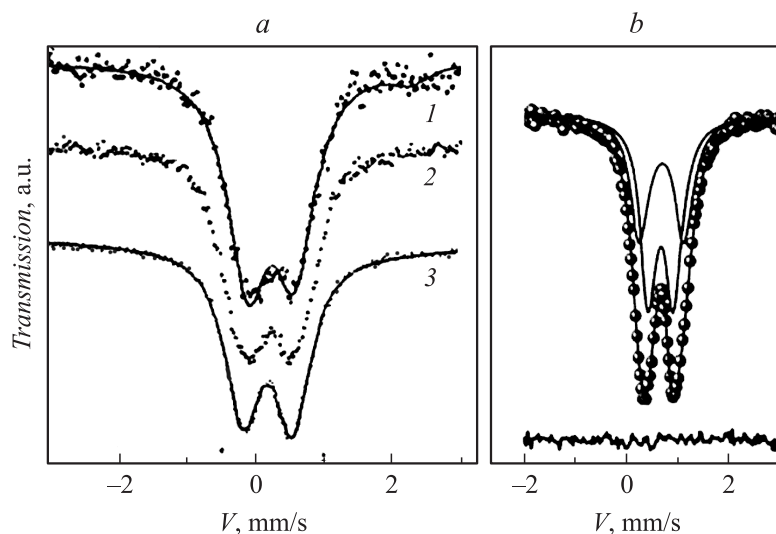


Рис. 1. Мессбауэровские спектры ядер ^{57}Fe в исследуемых системах. *a:* 1 — сушеная топяная (*Graphalium Uliginosum*) ($T = 300\text{ K}$); 2 — бактерии *Asotobacter vinelandii* ($T = 80\text{ K}$); 3 — ферритин ($T = 80\text{ K}$). *b:* модельная расшифровка в двухдублетном приближении препарата *Bacillus Sb* ($\delta_1 = \delta_2 = 0.60 \pm 0.03\text{ mm/s}$; $\Delta_1 = 0.45 \pm 0.03\text{ mm/s}$, $\Delta_2 = 1.01 \pm 0.05\text{ mm/s}$, $T = 300\text{ K}$).

микроорганизмы (содержание железа до 4%) и другие живые вещества (по В.И. Вернадскому), илистые фракции (частицы $\leq 0.001\text{ mm}$) ряда почв. Препараты растирали в фарфоровой ступке и просеивали через капроновое сито с ячейкой 0.25 mm^2 . Спектры ЯГР регистрировали при комнатной температуре в геометрии пропускания, источником изучения служил ^{57}Co в матрице хрома. Для магнитных измерений использовали магнитные весы Фарадея с магнитом постоянного тока (0.1–1.2 Т). Чувствительность метода по массовой концентрации ферригидрита составляет $\sim 0.01\%$. Масса исследованных образцов по сухой навеске живого вещества составляла 15–20 мг. В качестве дополнительного контроля образцов применялся рентгенодифрактометрический метод.

Типичные мессбауэровские спектры некоторых веществ приведены на рис. 1. Они представляют собой суперпозицию нескольких квадрупольных дублетов, обусловленных атомами Fe^{3+} , находящихся в высо-

коспиновом состоянии. В результате математической обработки при варьировании изомерного сдвига (δ), квадрупольного расщепления (Δ) и ширины линий получены параметры, свидетельствующие о том, что катионы железа имеют два типа октаэдрической координации с близкими значениями сдвига ($\delta_1 = \delta_2$) с малым ($\Delta_1 = 0.67 \pm 0.08$ mm/s) и относительно большим расщеплениями ($\Delta_2 = 1.03 \pm 0.05$ mm/s) (рис. 1, *b*). Заселенность позиций приблизительно одинакова. Так как атомы Fe^{3+} образуют ядра глобулярного белка ферритина (ферригидрита) с размером мицелл ≤ 10 nm [1,5,6], то количества внутренних и поверхностных атомов железа имеют близкие значения [2,3,4], поэтому один дублет с меньшим Δ может быть отнесен железу с менее искаженным окружением, с большим искажением — к поверхностным атомам. Последние легче перемагничиваются и дают вклад в магнитный момент частицы [1,6], что впоследствии способствует формированию суперпарамагнитных свойств вещества.

Для измерений удельной магнитной восприимчивости χ мы применяли известную интерполяционную формулу [3,6]

$$\chi = \chi_{\infty} + \frac{\sigma_s}{H}. \quad (1)$$

Удельная магнитная восприимчивость χ_{∞} и намагниченность насыщения σ_s для типичных исследуемых образцов при $T = 293$ К приведены в таблице. Из рис. 2 видно, что исследуемые объекты ведут себя в магнитном поле как диамагнетики ($\chi_{\infty} < 0$ при $1/H \rightarrow 0$); в то же время у них величина $\sigma_s > 0$ (см. таблицу). Наличие областей, обладающих положительным значением σ_s , можно понять исходя из представлений физиологии питания растений [2,3,6]. Подтверждением версии о наличии в веществе частиц ферригидрита являются и результаты воздействия гидротермальной обработки проб на их магнитные свойства [1,3]. Практически у всех образцов после обработки отмечено возрастание величины σ_s (см. таблицу). В этой связи возникает вопрос об идентификации соединений железа, которыми может быть обусловлена намагниченность насыщения σ_s как до гидротермальной обработки, так и после нее. Для обсуждения этого вопроса целесообразно привлечь результаты исследований магнитных свойств у проб после проведенной нами еще одной температурной обработки. Нагревание свежих воздушно-сухих образцов при температурах около 450°C также приводит к росту σ_s , но уже на 2–3 порядка (см. таблицу), что обусловлено образованием магнетита [3].

Данные магнитных измерений

| Название образцов (name of the sample) | Воздушно-сухие препараты | | После гидротермальной обработки $\geq 100^\circ\text{C}$, 2 h | | Магнитная фракция из отожженных образцов |
|---|--|--|--|--|--|
| | χ_∞ , m^3/kg | σ_s , $\text{A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}$ | χ_∞ , m^3/kg | σ_s , $\text{A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}$ | |
| 1. Аир (<i>Asogus caiaum L</i>) | -4.40 | 0.41 | -3.77 | 1.25 | 15.2 |
| 2. Сельдерей (<i>Apium graveolens L</i>) | -3.50 | 2.52 | -4.64 | 2.17 | 12.8 |
| 3. Ферритин (Ferritin) | +2.26 | 2.59 | 3.2 | 5.82 | 28.5 |

Обозначения в таблице: $\chi_\infty \cdot 10^{-8} \text{m}^3/\text{kg}$ — удельная магнитная восприимчивость; $\sigma_s > 10^{-3} \text{A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}$ — удельная намагниченность насыщения. В последней колонке σ_s — целые единицы в СИ.

Всю совокупность данных о магнитных свойствах проб (в исходном состоянии, после гидротермальной обработки и после отжига на воздухе) можно объяснить следующим образом. В естественном состоянии пробы содержат железо в виде гидроксидов ($\text{Fe}(\text{OH})_2$), следствием чего является наличие у них не только диамагнитных, но также парамагнитных и ферромагнитных свойств. Однако диамагнитная составляющая χ перекрывает вклады от парамагнитной и ферримагнитной компонент (опять же из-за малого содержания железа в слабомагнитной матрице). Гидротермальная обработка стимулирует перевод гидроксидов в оксиды (преимущественно в гематит $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), благодаря чему возникает некоторое увеличение σ_s . Значительное возрастание σ_s для образцов, подвергнутых отжигу на воздухе, объясняется наличием в них магнетита (см. таблицу). В результате дополнительных исследований рентгенодифрактометрическим методом порошкообразных образцов также наблюдаются (на фоне других линий) хорошо разрешенные рефлексы магнетита (рис. 3). По ширине пиков удалось оценить характерный линейный размер частиц магнетита, он оказался порядка 20 nm. На некоторых дифрактограммах были обнаружены следы гематита, что свидетельствовало о частичном превращении гидроксидов и магнетита в гематит. Прогрев на воздухе проб при

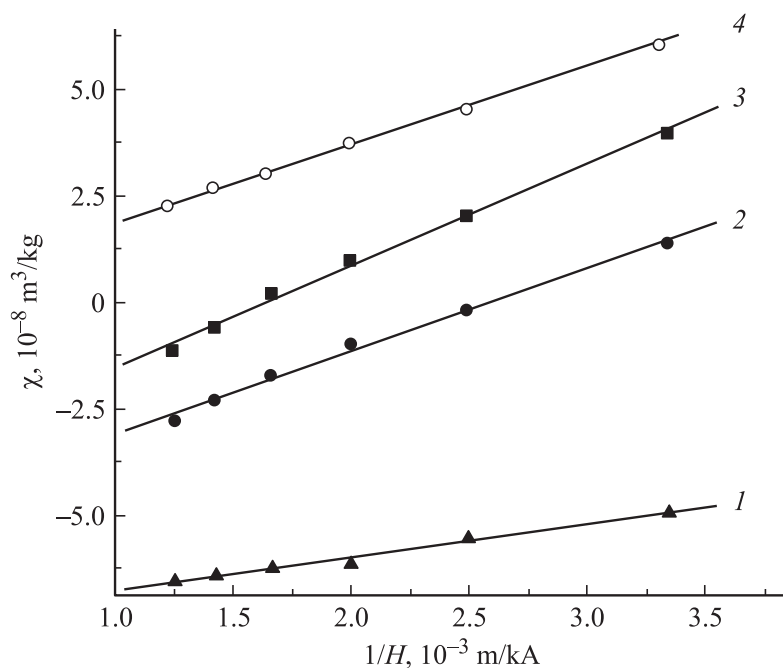


Рис. 2. Зависимости магнитной восприимчивости χ от обратной величины магнитного поля $1/H$ (293 К) для природных систем: 1 — печень (vassa); 2 — плоды клюквы (*oxycoccus microcalhus*); 3 — чабрец (*Thymus s.p.*); 4 — ферритин (ferritine) из образца 1.

еще более высоких температурах, порядка 800°C в условиях доступа воздуха ведет к падению намагниченности от $(200-23\ 000) \cdot 10^{-3}$ до $(50-200) \cdot 10^{-3} \text{ A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}$, что связано с превращением магнетита в гематит.

Учитывая полученные результаты исследований можно сделать следующие выводы.

1. Для идентификации ферритина в живом веществе необходимы и достаточны следующие экспериментальные факты:

а) наличие в мессбауэровских спектрах дублета с параметрами Fe (III) в высокоспиновом состоянии $S = 5/2$;

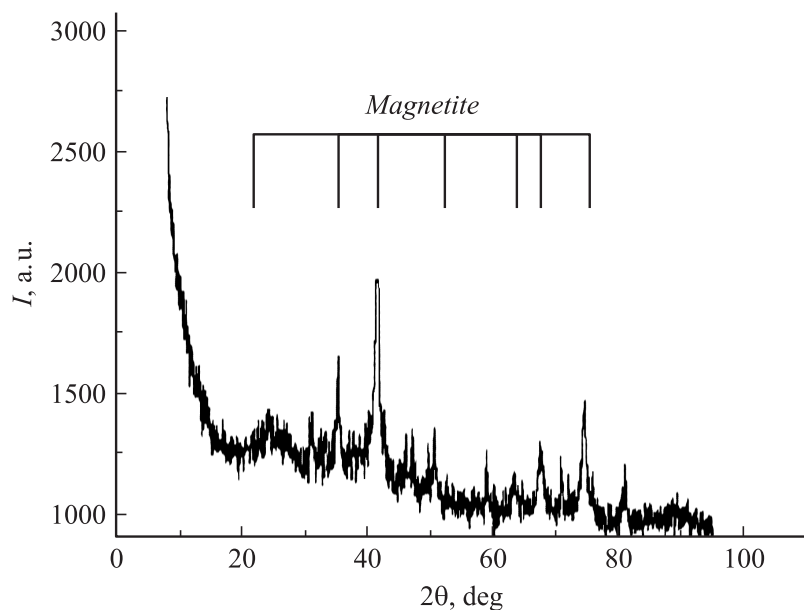


Рис. 3. Дифрактограмма магнитной фракции, выделенной из образца чабреца (*Thymus s.p.*), подвергнутого термообработке при 500°C.

б) проявления диамагнетизма или слабого парамагнетизма вещества в магнитном поле при $1/H \rightarrow 0$;

с) наличие линейной зависимости намагниченности вещества от величины $1/H$.

2. Примененная методика измерения параметров состояния железа при комнатной температуре показала, что для диагностики ферритина можно избежать использования дорогостоящей гелиевой криогенной техники.

3. Для оценочных измерений живого вещества на наличие в нем ферритина достаточно определить его магнитные свойства и выяснить, удовлетворяют ли они пунктам 1, б, с.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант 09-04-01107.

Список литературы

- [1] Бабанин В.Ф., Иванов П.А., Горовой Ю.М., Михалева Н.В. // Тез. докл. школы-семинара „Физика в системе высшего и среднего образования России“. М., 2010. С. 57–58.
- [2] Бабанин В.Ф., Залуцкий А.А., Михалева Н.В., Пухов Д.Э., Омелянюк Г.Г. // Вестник РУДН. 2009. № 2. С. 5–13.
- [3] Бабанин В.Ф., Николаев В.И., Пухов Д.Э., Шипилин М.А., Шипилин А.М. // Биофизика. 2010. Т. 55. В. № 2. С. 302–306.
- [4] Райхер Ю.Л., Степанов В.И., Столяр С.В., Ладыгина В.П., Балаев Д.А., Ищенко Л.А., Балаشوя М.И. // ФТТ. 2010. Т. 2. В. 2. С. 277–284.
- [5] Kilsoune S.H., Czwinsky R. // J. M.M.M. 1995. P. 1466–1467.
- [6] Бабанин В.Ф., Залуцкий А.А., Калаева С.З., Макаров В.М., Михалева Н.В., Пухов Д.Э., Омелянюк Г.Г. // Изв. вузов. Хим. и хим. технология. 2009. Т. 52. В. 11. С. 101–106.