



УДК 574.522

## АЛГОРИТМ АНАЛИЗА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ТКАНЯХ РЫБ НА ПРИМЕРЕ ЩУКИ

**ЗОЛОТАРЁВ**

Константин Владимирович

ФГБНУ "Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича" (ИБМХ), [fireaxe@mail.ru](mailto:fireaxe@mail.ru)

**МИХАЙЛОВА**

Марина Викторовна

ФГБНУ "Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича" (ИБМХ), [m\\_mikhailova@mail.ru](mailto:m_mikhailova@mail.ru)

**НАХОД**

Кирилл Викторович

ФГБНУ "Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича" (ИБМХ), [g-s2011@mail.ru](mailto:g-s2011@mail.ru)

**МИХАЙЛОВ**

Антон Николаевич

ФГБНУ "Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича" (ИБМХ), [tuhas84@mail.ru](mailto:tuhas84@mail.ru)

**Ключевые слова:**  
тяжелые металлы  
распределение  
щука  
анализ соотношений  
алгоритм

**Аннотация:** С целью изучения распределения тяжелых металлов между тканями рыб и поиска адекватных математических приемов для его оценки создан алгоритм анализа экспериментальных данных по содержанию тяжелых металлов в тканях рыб. Первый этап анализа по данному алгоритму – расчет средних соотношений содержания всех анализируемых металлов для каждой пары тканей в каждой рыбе; второй этап – расчет средних соотношений содержания отдельно для каждого анализируемого металла в каждой паре органов и тканей для всех рыб. Работоспособность алгоритма проверялась на полученных в ходе работы данных о содержании тяжелых металлов в тканях обыкновенной щуки (*Esox lucius*) водоемов бассейна Верхней Волги. Значения содержания были получены методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. В ходе 1-го этапа анализа были обнаружены более-менее достоверные средние соотношения содержания тяжелых металлов для отдельно взятых рыб, однако общие закономерности распределения тяжелых металлов по тканям щуки выявить не удалось. Есть вероятность, что при расширении и оптимизации выборки рыб общие закономерности распределения тяжелых металлов по тканям рыб могут быть найдены. В ходе 2-го этапа анализа статистически достоверно было выявлено, что у щуки кобальт (Co) значительно сильнее накапливается в костях по сравнению с гонадами и мышцами, а кадмий (Cd) – в сердце по сравнению с другими тканями, особенно мышцами. Кроме того, медь (Cu) существенно слабее накапливается в мышцах по сравнению с другими исследуемыми тканями.

© Петрозаводский государственный университет

**Рецензент:** Р. У. Высоцкая

**Рецензент:** Г. Г. Соколова

Получена: 02 апреля 2018 года

Подписана к печати: 08 октября 2018 года

## Введение

Тяжелые металлы – химические элементы, имеющие, как правило, высокую атомную массу и обладающие свободными энергетическими d-подуровнями, благодаря чему могут выступать в качестве акцепторов пар электронов при образовании донорно-акцепторных связей. В качестве доноров электронов могут выступать важные биологически активные соединения, содержащие атомы N, S и O с парами электронов: белки, аминокислоты, нуклеотиды, нуклеиновые кислоты. Поэтому ионы тяжелых металлов относятся к приоритетным загрязнителям окружающей среды (Yohannes et al., 2013). Содержание тяжелых металлов в тканях рыб – важный показатель экологического состояния населенного ими водоема. Этот показатель подлежит регулярному мониторингу во многих странах мира, например в Европейском союзе (European Parliament..., 2008). Во многих научных публикациях, в том числе за последние годы, проводится не просто измерение, а попытки выявить достоверность различий по содержанию металлов между тканями рыб одного вида (Türkmen et al., 2013) либо общий уровень загрязненности металлами отдельных тканей и всей рыбы (Vaseem et al., 2013).

Распределение металлов между тканями рыб важно с точки зрения понимания физиологических процессов обмена металлами между тканями и защиты от вредного воздействия ионов металлов. Можно проследить, что проникновение металлов в организм рыбы осуществляется в основном через жабры, затем значительная часть их переносится в физиологически активные ткани – печень, почки (Boalt et al., 2014). Однако более точных представлений о том, какая часть массы того или иного металла задерживается в жабрах, какая попадает в эти и другие ткани, на сегодняшний день нет. Отсутствие таких представлений обусловлено, в частности, отсутствием адекватных математических приемов и показателей для определения ранга загрязненности тяжелыми металлами какой-либо ткани. Дело в том, что содержание ряда металлов (например, Zn и Hg) имеет разный порядок, поэтому вычислять среднее арифметическое между ними некорректно. Также некорректно и использовать среднее геометрическое, т. е. корень степени  $n$  из произведения  $n$  значений содержания, однако оно применяется в качестве т. н. индекса загрязненности ме-

таллами той или иной ткани (metal pollution index, MPI) в ряде исследований (Subotić et al., 2013; Vaseem et al., 2013). Этот индекс изначально был предназначен для целых организмов (AMA, 1992) и использовался для оценки общего уровня загрязненности металлами двустворчатого моллюска (Usero et al., 1996), но для более тонкого анализа распределения металлов по тканям данный показатель не будет адекватным.

Цель исследования – изучение распределения тяжелых металлов между тканями рыб и поиск адекватных математических приемов для его оценки.

## Материалы

Для проверки работоспособности алгоритма и получения предварительных выводов о распределении металлов по тканям была выбрана обыкновенная щука (*Esox lucius*). Это распространенная в водоемах средней полосы хищная рыба, способная накапливать по пищевой цепи тяжелые металлы, потребляя их с добычей, поэтому распределение металлов по ее тканям представляется показательным и интересным. 32 особи взрослой щуки (18 самцов и 14 самок, возраст 3–6 лет) были выловлены в проточных водоемах бассейна р. Волга (различные участки Угличского вдхр.) на территории Тверской области. Рыбы подвергались анестезии на льду, затем с помощью пинцетов и скальпелей проводилось вскрытие и отбор образцов жабр, печени, селезенки, мышц, костей (позвонки), сердца, гонад. Образцы тканей (около 1 г) очищались от лишних тканей и хранились в замороженном виде.

## Методы

Авторами был создан алгоритм, позволяющий автоматически рассчитывать различные средние соотношения содержания металлов между тканями рыб и их среднеквадратичные отклонения. С целью проверки работоспособности алгоритма и получения предварительных выводов о распределении металлов по тканям с помощью метода масс-спектрометрии в индуктивно-связанной плазме были выполнены количественные измерения содержания различных металлов в органах и тканях рыб (на примере щуки).

### Алгоритм анализа распределения

Алгоритм реализуется на платформе Visual Basic в приложении к Microsoft Excel и выдает 2 промежуточных и 3 результирующих массива данных. При наличии достаточной

выборки по рыбам (вид, пол, возраст) такой способ анализа данных дает возможность понять, в каких органах и тканях тяжелые металлы накапливаются сильнее или слабее, а также существует ли разница в распределении тех или иных металлов, ионы которых имеют в значительной степени сходные химические свойства.

Первый этап анализа по данному алгоритму (рис. 1) – расчет средних соотношений содержания всех анализируемых металлов для каждой пары тканей в каждой рыбе. В алгоритм заложено создание для каждой рыбы 2-мерного массива, в который заносятся средние по металлам соотношения содержания каждого из них в одной ткани к содержанию в другой. Массив представляет собой матрицу и заполняется при прохождении двойного цикла; в наружном цикле меняется «ткань-числитель» (т. е. та, содержание металлов в которой при расчете среднего отношения берется в числитеle), во внутреннем – «ткань-знаменатель». Затем аналогичным образом создается 2-мерный массив среднеквадратичных отклонений соотношений содержания металлов. Полученные данные выводятся в таблицу Microsoft Excel, после чего на следующем этапе программа создает 3 двумерных массива, 1 из которых является матрицей сумм соответственных соотношений (т. е. с одинаковыми «числителями» и «знаменателями»), другой – матрицей сумм среднеквадратичных отклонений, третий – матрицей количеств этих соотношений. Далее программа производит расчет средних по всем рыбам соотношений всех металлов между тканями и соответствующих значений относительной погрешности путем деления среднеквадратичных отклонений на средние соотношения, учитывая возможность отсутствия данных по той или иной ткани в той или иной рыбе.

Второй этап (рис. 2) – расчет средних соотношений содержания отдельно для каждого анализируемого металла по каждой паре органов и тканей для всех рыб. В алгоритм заложено циклическое суммирование для каждого металла соотношения его содержания по каждой паре тканей по всем рыбам соответственно, а также подсчет количества этих пар. Затем происходит расчет и вывод матриц средних соотношений для каждого металла.

*Растворение образцов тканей (пробоподготовка)*

Пробоподготовку проводили путем рас-

творения в особо чистой  $\text{HNO}_3$  при микроволновом нагревании в печи Milestone Start D согласно методике, предлагаемой производителем печи (Milestone, 2008): образец ткани (0.5–1 г) предварительно взвешивали, заливали кислотой до объема 8 мл и нагревали в печи при 200 °C в течение 30 мин, затем охлаждали до 60 °C и разбавляли дейонизованной водой в 12 раз (до безопасной для измерительного прибора концентрации  $\text{HNO}_3$  5 %).

#### *Измерение содержания металлов*

Концентрации ионов металлов в полученных пробах измерялись с помощью октопольного масс-спектрометра с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7500ce. Рабочие параметры: давление аргона 7 ат, температура охлаждающей воды 12 °C, остальные определялись на каждой серии измерений в ходе настройки. Калибровка прибора производилась по стандартным растворам измеряемых ионов. Значения содержания металлов в образцах тканей вычислялись в мкг/кг ткани для Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Cd, Sn, Sb, Hg, Pb с учетом разбавления и массы образцов.

### **Результаты**

В ходе 1-го этапа анализа были обнаружены более-менее достоверные средние соотношения содержания тяжелых металлов для отдельно взятых особей рыб. Например, у одной из рыб (самка, возраст 4 года, масса 1.2 кг) соотношение металлов в мышце и селезенке составило  $0.37 \pm 0.15$ , а в мышцах и жабрах  $0.54 \pm 0.40$ , т. е. можно говорить, что у данной рыбы тяжелые металлы накапливались в мышцах слабее, чем в селезенке и жабрах. Такие данные могут быть полезными, например, при выявлении причинно-следственных связей между патологиями рыб и массовым действием тяжелых металлов в той или иной физико-химической форме в водоеме на рыбу. Однако если говорить об общих закономерностях распределения тяжелых металлов по тканям щуки, их выявить не удалось, т. к. относительные погрешности средних соотношений всех металлов по всем рыбам оказались весьма высокими.

В ходе 2-го этапа анализа были получены соотношения содержания отдельных металлов по каждой паре тканей (таблица). При анализе этих данных достоверно выявлены особенности распределения некоторых металлов по тканям, характерные для всех рыб данной выборки:

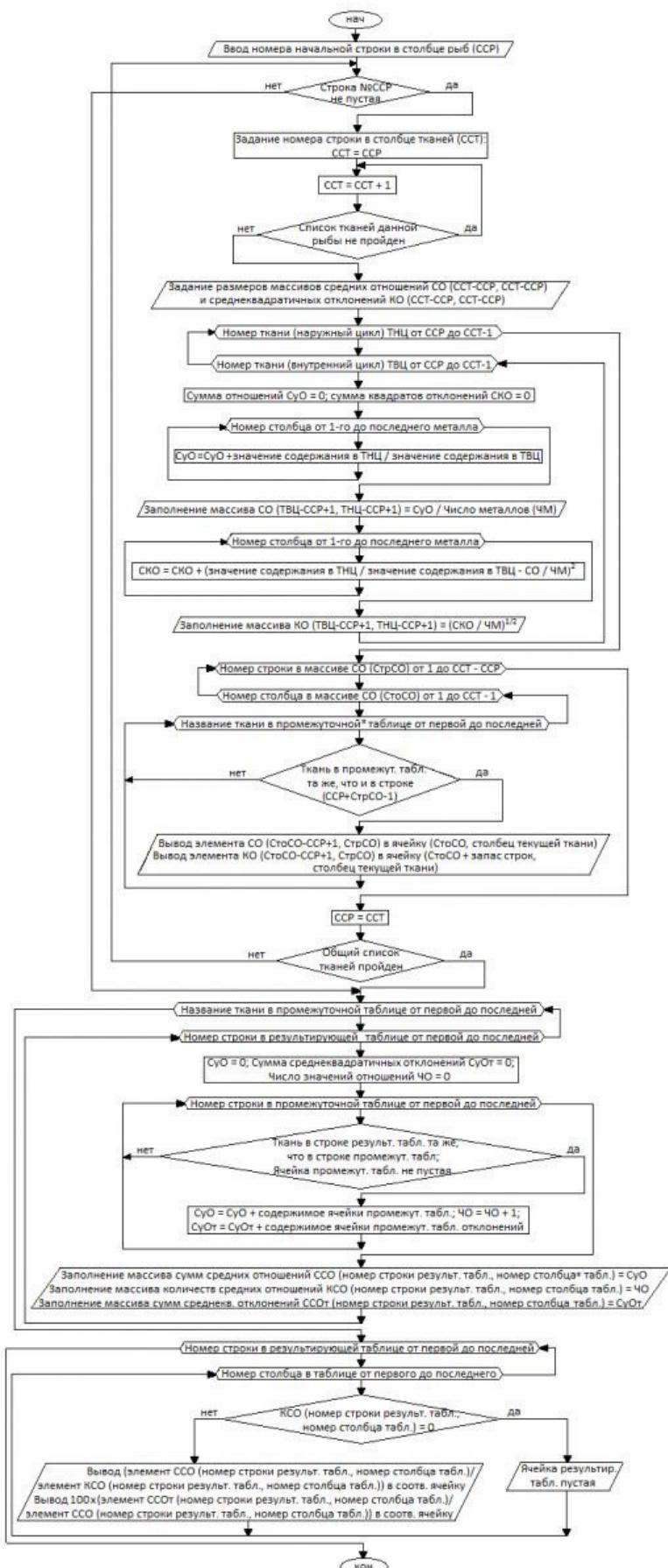


Рис. 1. Блок-схема 1-го этапа анализа распределения тяжелых металлов по тканям рыб. Исходные данные помещаются в таблицу Microsoft Excel так, чтобы названия тканей были расположены построчно (ткани 1-й рыбы, сразу затем 2-й и т.д.), а металлы располагались по столбцам.

\*В промежуточных таблицах, расположенных справа от исходной, по столбцам необходимо выписать все исследуемые ткани в любом порядке (данная ткань и будет являться переменной в массиве), а построчно список тканей копируется из исходной таблицы. В результирующих таблицах (справа от промежуточных) названия столбцов копируются из промежуточных, а названия строк те же, что названия столбцов

Figure 1. The flowchart of the first stage of the analysis of the distribution of heavy metals in fish tissues. The original data are placed in a Microsoft Excel spreadsheet so that the names of the tissues are arranged line by line (the tissues of the 1st fish, then the 2nd, etc.), and the metals are arranged in columns.

\* In the intermediate tables located to the right of the original table, all the concerned tissues must be placed in columns in any order (this tissue will be a variable in the array), and the list of tissues is copied line by line from the original table. In the resulting tables (to the right of the intermediate tables) the column names are copied from the intermediate columns, and the row names are the same as the column names

- Среднее соотношение содержания Со в костях и гонадах составило 1095, в костях и мышцах – 931. При анализе исходных данных получилось, что для всех рыб 1-е соотношение лежало в интервале от 383 до 2170, 2-е – от 639 до 3243.
- Среднее соотношение содержания Cd в сердце и мышцах составило 229. При анализе исходных данных было видно, что если в любой из этих тканей содержание превышало 5 мкг/кг, то это происходило именно в сердце, причем кратность превышения содержания в сердце по сравнению с мышцами составляла от 226 до 3230. Таких рыб было 4 из 32 (т. е., судя по всему, имело место разовое попадание Cd в тело щуки, наиболее значительное количество которого оседало в сердце). В среднем в сердце Cd накапливался также значительнее, чем в гонадах (среднее соотношение 92), жабрах (122), печени (156).
- Отмечено более низкое накопление Си в мышцах по сравнению с остальными тканями (см. таблицу).

## Обсуждение

При расширении и оптимизации выборки рыб могут быть выявлены общие закономерности распределения тяжелых металлов по тканям щуки. Водоемы бассейна верхней Волги существенно не загрязнены ионами тяжелых металлов, там отсутствуют металлургические или иные производства, способные генерировать такое загрязнение. Загрязненность Угличского вдхр. среди водоемов верхней Волги считается не самой высокой (Экологические проблемы..., 2001). Согласно последним данным экомониторинга Угличского вдхр., аномальных зон загрязнения воды тяжелыми металлами не выявлено (Григорьева и др., 2016). При бе-

глом анализе исходных значений содержания металлов в тканях было видно, что для ряда металлов (Со, Ni, Cd и др.) эти значения являлись следовыми (не более 5 мкг/кг), однако у многих рыб имели место резкие (на 2–3 порядка вверх) скачки содержания, не воспроизводящиеся ни для других металлов в данной ткани, ни для этого же металла в других тканях. Это может объясняться разовыми попаданиями того или иного металла в организм щуки (например, по пищевой цепи) и разными скоростями его биоаккумуляции и выведения из разных тканей. Наличие таких резких скачков внесло основной вклад в высокую относительную погрешность каждого из средних соотношений. Тем не менее представляется, что у рыб, населяющих экосистемы с повышенным содержанием сразу нескольких тяжелых металлов (что часто имеет место, например, в водоемах вблизи мест добычи, обработки и захоронения железа, цветных металлов, а также угля), подобные скачки менее вероятны, а значит, больше вероятность получить достоверные соотношения по данному алгоритму.

Касательно результатов 2-го этапа анализа:

- В токсикологической литературе есть данные о том, что кобальт более всего накапливается именно в костях (Bingham et al., 2001). При этом, если проанализировать средние соотношения в костях и гонадах только для самцов (1034) и только для самок (1074), получается, что нет существенной разницы по накоплению Со в гонадах особей щуки разного пола.
- В литературе имеются данные о способности иона  $Cd^{2+}$  замещать  $Ca^{2+}$  в связывающих его белках (Marchetti, 2013). Такая способность вызвана, скорее всего, близостью радиусов ионов  $Cd^{2+}$  (0.109 нм) и  $Ca^{2+}$  (0.114 нм). Ясно, что сердечная мышца содержит значительное количество кальциевых каналов, где, скорее всего, в

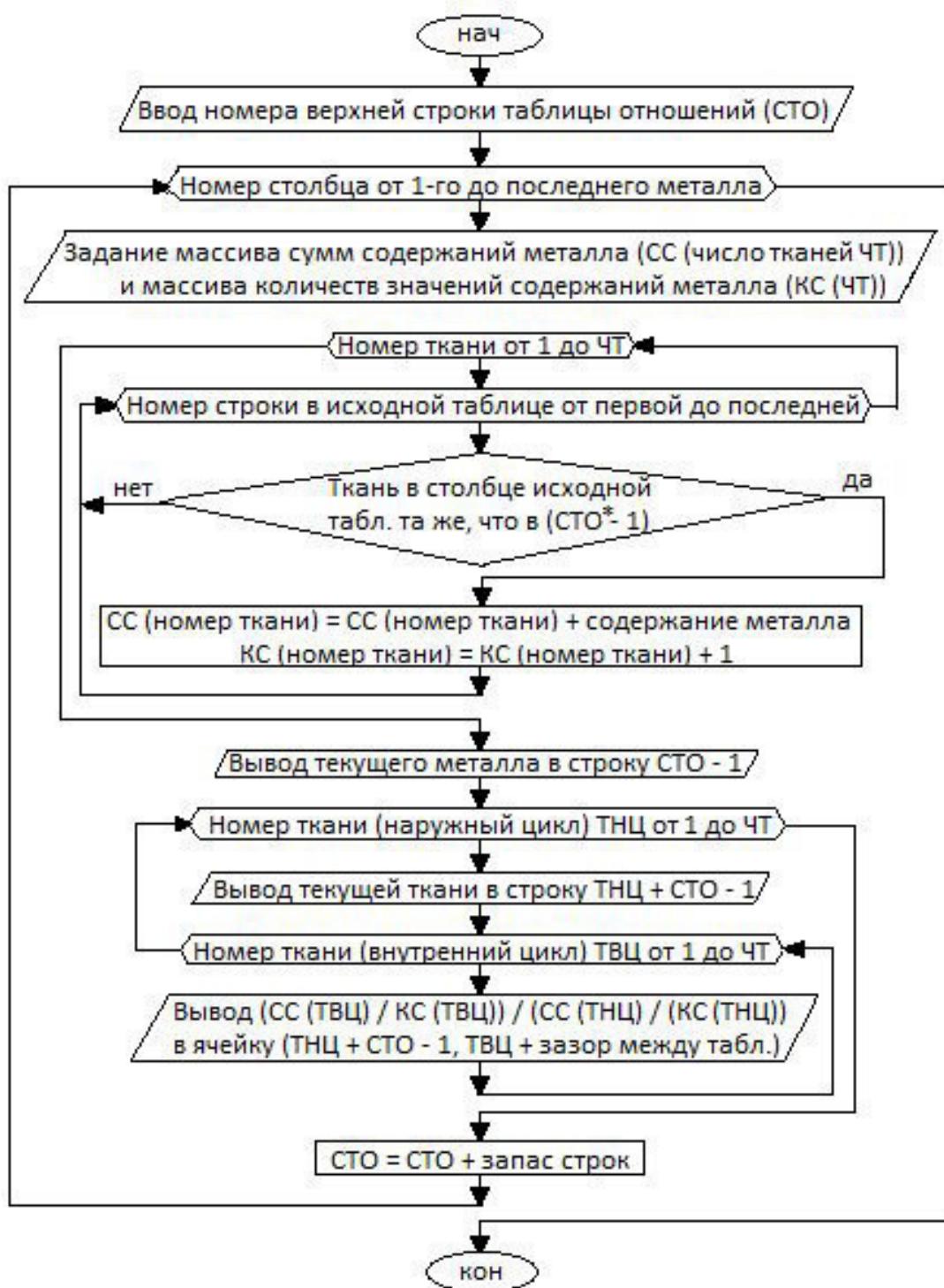


Рис. 2. Блок-схема 2-го этапа анализа распределения тяжелых металлов по тканям рыб. Исходные данные помещаются в таблицу Microsoft Excel так, чтобы названия тканей были расположены построчно (ткани 1-й рыбы, сразу затем 2-й и т.д.), а металлы располагались по столбцам. В результирующей серии таблиц (одна под другой для каждого металла, столбцы общие) по столбцам необходимо выписать все исследуемые ткани в любом порядке (данная ткань и будет являться переменной в массиве). Эта серия таблиц должна начинаться со 2-й строки таблицы Excel, а таблица исходных данных – с первой (шапка таблицы – одна строка). \*Начальное значение СТО не меняется в ходе выполнения цикла

Figure 2. The flowchart of the second stage of the analysis of distribution of heavy metals in fish tissues. The original data are placed in a Microsoft Excel spreadsheet so that the names of the tissues are arranged line by line (the tissues of the 1st fish, then the 2nd, etc.), and the metals are arranged in columns. In the resulting series of tables (one under the other for each metal, the columns are common), it is necessary to put out all the studied tissues in any order in the columns (this tissue will be a variable in the array). This series of tables should begin with the second line of the Excel table, and the table of the original data - from the first one (table head is one line). \* The initial value of the ratio table top row number is constant during the cycle run.

Средние соотношения содержания меди между тканями щуки\*

Cu

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	3.198	0.415	9.138	4.140	0.036	0.963
гонады	0.313	1.000	0.130	2.857	1.295	0.011	0.301
жабры	2.410	7.706	1.000	22.020	9.976	0.086	2.320
сердце	0.109	0.350	0.045	1.000	0.453	0.004	0.105
печень	0.242	0.772	0.100	2.207	1.000	0.009	0.233
мышцы	27.988	89.509	11.615	255.764	115.873	1.000	26.949
селезенка	1.039	3.321	0.431	9.491	4.300	0.037	1.000

Cr

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	6.417	5.639	2.836	7.757	8.659	14.518
гонады	0.156	1.000	0.879	0.442	1.209	1.349	2.262
жабры	0.177	1.138	1.000	0.503	1.376	1.535	2.574
сердце	0.353	2.263	1.989	1.000	2.736	3.053	5.120
печень	0.129	0.827	0.727	0.366	1.000	1.116	1.871
мышцы	0.115	0.741	0.651	0.328	0.896	1.000	1.677
селезенка	0.069	0.442	0.388	0.195	0.534	0.596	1.000

Mn

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	0.096	0.556	0.016	0.041	0.004	0.063
гонады	10.414	1.000	5.788	0.166	0.429	0.047	0.653
жабры	1.799	0.173	1.000	0.029	0.074	0.008	0.113
сердце	62.691	6.020	34.840	1.000	2.583	0.280	3.930
печень	24.273	2.331	13.490	0.387	1.000	0.108	1.522
мышцы	223.766	21.487	124.356	3.569	9.219	1.000	14.028
селезенка	15.952	1.532	8.865	0.254	0.657	0.071	1.000

Fe

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	0.001	0.540	0.030	0.010	0.007	0.187
гонады	826.198	1.000	446.237	24.978	8.106	5.907	154.291
жабры	1.851	0.002	1.000	0.056	0.018	0.013	0.346
сердце	33.077	0.040	17.865	1.000	0.325	0.236	6.177
печень	101.925	0.123	55.051	3.081	1.000	0.729	19.034
мышцы	139.872	0.169	75.546	4.229	1.372	1.000	26.121
селезенка	5.355	0.006	2.892	0.162	0.053	0.038	1.000

Co

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	0.001	0.282	0.008	0.001	0.001	0.002
гонады	1095.883	1.000	308.678	9.074	1.048	1.177	1.761
жабры	3.550	0.003	1.000	0.029	0.003	0.004	0.006
сердце	120.765	0.110	34.016	1.000	0.115	0.130	0.194
печень	1045.750	0.954	294.558	8.659	1.000	1.123	1.681
мышцы	931.261	0.850	262.309	7.711	0.891	1.000	1.497
селезенка	622.201	0.568	175.256	5.152	0.595	0.668	1.000

Ni

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	0.510	0.615	0.460	0.590	0.539	0.648
гонады	1.960	1.000	1.207	0.903	1.157	1.056	1.271
жабры	1.625	0.829	1.000	0.748	0.959	0.875	1.053
сердце	2.172	1.108	1.337	1.000	1.282	1.169	1.408
печень	1.694	0.864	1.042	0.780	1.000	0.912	1.098
мышцы	1.857	0.947	1.143	0.855	1.096	1.000	1.204
селезенка	1.542	0.787	0.949	0.710	0.911	0.831	1.000

Zn

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	0.824	2.360	1.013	0.960	0.341	0.789
гонады	1.214	1.000	2.866	1.231	1.166	0.414	0.958
жабры	0.424	0.349	1.000	0.429	0.407	0.144	0.334
сердце	0.987	0.813	2.329	1.000	0.948	0.336	0.778
печень	1.041	0.857	2.458	1.055	1.000	0.355	0.821
мышцы	2.934	2.416	6.925	2.973	2.818	1.000	2.314
селезенка	1.268	1.044	2.993	1.285	1.218	0.432	1.000

As

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	0.927	2.556	0.567	2.642	1.015	1.905
гонады	1.079	1.000	2.759	0.612	2.851	1.095	2.056
жабры	0.391	0.363	1.000	0.222	1.033	0.397	0.745
сердце	1.764	1.635	4.510	1.000	4.661	1.790	3.362
печень	0.379	0.351	0.968	0.215	1.000	0.384	0.721
мышцы	0.986	0.913	2.519	0.559	2.604	1.000	1.878
селезенка	0.525	0.486	1.342	0.297	1.386	0.533	1.000

Mo

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	0.585	2.018	2.018	2.353	0.398	0.998
гонады	1.709	1.000	3.448	3.449	4.022	0.681	1.706
жабры	0.496	0.290	1.000	1.000	1.166	0.197	0.495
сердце	0.496	0.290	1.000	1.000	1.166	0.197	0.495
печень	0.425	0.249	0.857	0.858	1.000	0.169	0.424
мышцы	2.510	1.469	5.064	5.065	5.907	1.000	2.506
селезенка	1.002	0.586	2.021	2.021	2.357	0.399	1.000

Cd

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	0.054	0.040	4.944	0.032	0.022	1.628
гонады	18.606	1.000	0.752	91.986	0.590	0.401	30.292
жабры	24.757	1.331	1.000	122.393	0.786	0.534	40.306
сердце	0.202	0.011	0.008	1.000	0.006	0.004	0.329
печень	31.510	1.693	1.273	155.778	1.000	0.679	51.300
мышцы	46.386	2.493	1.874	229.321	1.472	1.000	75.519
селезенка	0.614	0.033	0.025	3.037	0.019	0.013	1.000

Sn

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	0.104	2.526	1.802	0.997	8.149	0.729
гонады	9.601	1.000	24.247	17.297	9.576	78.238	7.002
жабры	0.396	0.041	1.000	0.713	0.395	3.227	0.289
сердце	0.555	0.058	1.402	1.000	0.554	4.523	0.405
печень	1.003	0.104	2.532	1.806	1.000	8.170	0.731
мышцы	0.123	0.013	0.310	0.221	0.122	1.000	0.090
селезенка	1.371	0.143	3.463	2.470	1.368	11.173	1.000

Sb

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	0.896	0.459	2.001	0.148	0.414	0.932
гонады	1.116	1.000	0.512	2.232	0.165	0.462	1.039
жабры	2.177	1.952	1.000	4.356	0.323	0.902	2.028
сердце	0.500	0.448	0.230	1.000	0.074	0.207	0.466
печень	6.751	6.052	3.101	13.507	1.000	2.797	6.289
мышцы	2.413	2.163	1.108	4.829	0.357	1.000	2.248
селезенка	1.073	0.962	0.493	2.148	0.159	0.445	1.000

### Hg

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	1.507	2.022	1.950	1.584	1.065	2.644
гонады	0.664	1.000	1.342	1.294	1.051	0.706	1.754
жабры	0.495	0.745	1.000	0.964	0.784	0.527	1.308
сердце	0.513	0.773	1.037	1.000	0.812	0.546	1.356
печень	0.631	0.951	1.276	1.231	1.000	0.672	1.669
мышцы	0.939	1.416	1.899	1.832	1.488	1.000	2.483
селезенка	0.378	0.570	0.765	0.738	0.599	0.403	1.000

### Pb

Ткань	кость	гонады	жабры	сердце	печень	мышцы	селезенка
кость	1.000	1.489	1.966	1080.050	1.568	1.064	2.579
гонады	0.672	1.000	1.320	725.411	1.053	0.715	1.732
жабры	0.509	0.757	1.000	549.422	0.798	0.541	1.312
сердце	0.001	0.001	0.002	1.000	0.001	0.001	0.002
печень	0.638	0.950	1.254	688.910	1.000	0.679	1.645
мышцы	0.940	1.399	1.848	1015.162	1.474	1.000	2.424
селезенка	0.388	0.577	0.762	418.804	0.608	0.413	1.000

Примечание. \* - «ткань-числитель» в соотношении находится в столбце, «ткань-знаменатель» – в строке таблицы.

основном накапливался кадмий.

- Подобные результаты описаны в литературе при исследовании накопления меди в тканях различных пресноводных рыб (Gül et al., 2011; Zubcov et al., 2012).

## Заключение

Созданный алгоритм позволяет выявить средние соотношения общей массы тяже-

лых металлов между тканями для отдельных особей рыб, а при расширении и оптимизации выборки – установить общие токсикологические закономерности распределения металлов. Для отдельных металлов удалось выявить объяснимые закономерности по распределению Co, Cd, Cu между некоторыми тканями.

## Библиография

- Григорьева И. Л., Лупанова И. А., Крутенко С. А. Современное состояние качества воды Угличского водохранилища по данным мониторинговых наблюдений // Тезисы докладов X Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды. Углич: Филигрань, 2016. С. 40.
- Экологические проблемы Верхней Волги: Коллективная монография . Ярославль: Изд-во ЯГТУ, 2001. 427 с.
- AMA (Agencia de Medio Ambiente). Determinacion del contenido de pesticidas en aguas y de metales en organismos vivos (Determining the pesticide content in waters and the metal content in living organisms). Seville, Spain: AMA, 1992.
- Bingham E., Cohrssen B., Powell C. H. Patty's Toxicology. Vol. 1–9. 5th ed. New York: John Wiley & Sons, 2001. Available at: <http://toxnet.nlm.nih.gov/>
- Boalt E., Miller A., Dahlgren H. Distribution of cadmium, mercury, and lead in different body parts of Baltic herring (*Clupea harengus*) and perch (*Perca fluviatilis*): implications for environmental status assessments // Marine Pollution Bulletin. 2014. Vol. 78. № 1–2. P. 130–136.

- European Parliament and the Council of the EU. Directive 2008/56/EC, establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy (Marine Strategy Framework Directive) // Official Journal of the European Union. 2008. L164. P. 19–40.
- Gül A., Yılmaz M., Benzer S., Taşdemir L. Investigation of zinc, copper, lead and cadmium accumulation in the tissues of *Sander lucioperca* (L., 1758) living in Hirfanlı Dam Lake, Turkey // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2011. Vol. 87. № 3. P. 264–266.
- Marchetti C. Role of calcium channels in heavy metal toxicity // ISRN Toxicology. Vol. 2013. P. 1–9.
- Milestone Inc. Animal tissue. Application field: Clinical / Pharmaceutical. Digestion Application Note DG-CL-02. Shelton, CT, USA: Milestone Inc., 2008.
- Subotić S., Višnjić Jeftić Ž., Spasić S., Hegediš A., Krpo-Ćetković J., Lenhardt M. Distribution and accumulation of elements (As, Cu, Fe, Hg, Mn, and Zn) in tissues of fish species from different trophic levels in the Danube River at the confluence with the Sava River (Serbia) // Environmental Science and Pollution Research International. 2013. Vol. 20. № 8. P. 5309–5317.
- Türkmen M., Tepe Y., Türkmen A., Kemal Sangün M., Ateş A., Genç E. Assessment of heavy metal contamination in various tissues of six ray species from İskenderun Bay, northeastern Mediterranean Sea // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2013. Vol. 90. № 6. P. 702–707.
- Usero J., González-Regalado E., Gracia I. Trace Metals in the Bivalve Mollusc *Chamelea gallina* from the Atlantic Coast of Southern Spain // Marine Pollution Bulletin. 1996. Vol. 32. № 3. P. 305–310.
- Vaseem H., Banerjee T. K. Contamination of metals in different tissues of rohu (*Labeo rohita*, Cyprinidae) collected from the Indian River Ganga // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2013. Vol. 91. № 1. P. 36–41.
- Yohannes Y. B., Ikenaka Y., Nakayama S. M., Saengtienchai A., Watanabe K., Ishizuka M. Organochlorine pesticides and heavy metals in fish from Lake Awassa, Ethiopia: Insights from stable isotope analysis // Chemosphere. 2013. Vol. 91. № 6. P. 857–863.
- Zubcov E., Zubcov N., Ene A., Biletschi L. Assessment of copper and zinc levels in fish from freshwater ecosystems of Moldova // Environmental Science and Pollution Research International. 2012. Vol. 19. № 6. P. 2238–2247.

## Благодарности

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы.

# ALGORITHM TO ANALYSE DISTRIBUTION OF HEAVY METALS IN FISH TISSUES ON THE EXAMPLE OF NORTHERN PIKE

**ZOLOTARYOV**

Konstantin Vladimirovich

*Institute of Biomedical Chemistry (IBMC), fireaxe@mail.ru*

**MIKHAILOVA**

Marina Viktorovna

*Institute of Biomedical Chemistry (IBMC), m\_mikhailova@mail.ru*

**NAKHOD**

Kirill Victorovich

*Institute of Biomedical Chemistry (IBMC), g-s2011@mail.ru*

**MIKHAILOV**

Anton Nikolaevich

*Institute of Biomedical Chemistry (IBMC), myhas84@mail.ru*

**Key words:**

heavy metals  
distribution  
pike  
ratio analysis  
algorithm

**Summary:** The paper deals with an algorithm created to analyze the heavy metals content in fish tissues. We developed it to study the distribution of heavy metals in fish tissues as well as to find appropriate mathematical approaches for its assessment. The algorithm consists of two steps. The first one is calculation of mean ratios of all the metals content being studied for every pair of tissues of each fish. The second one is calculation of mean ratios of an every single metal content for every pair of tissues of all the fishes. The operability of the algorithm was tested with the values of heavy metals concentrations in the northern pike (*Esox lucius*) tissues of the Upper Volga basin. These results were obtained using the inductively coupled plasma mass spectrometry. During the first step of the analysis more or less statistically reliable mean ratios of heavy metals content for individual fishes were obtained, but no common regularities of heavy metals distribution between pike tissues were revealed. These regularities can be found in expanding and optimizing the sample of fishes. At the second step it was statistically reliably stated that in pike Co accumulates in bones much more than in gonads or muscles, and Cd accumulates much more in heart than in other tissues especially in muscles. Besides, Cu accumulates much less in muscles than in other studied tissues.

**Reviewer:** R. U. Vysockaya

**Reviewer:** G. G. Sokolova

**Received on:** 02 April 2018

**Published on:** 08 October 2018

## References

- AMA (Agencia de Medio Ambiente). Determinacion del contenido de pesticidas en aguas y de metales en organismos vivos (Determining the pesticide content in waters and the metal content in living organisms). Seville, Spain: AMA, 1992.
- Bingham E., Cohrssen B., Powell C. H. Patty's Toxicology. Vol. 1–9. 5th ed. New York: John Wiley & Sons, 2001. Available at: <http://toxnet.nlm.nih.gov/>
- Boalt E., Miller A., Dahlgren H. Distribution of cadmium, mercury, and lead in different body parts of Baltic herring (*Clupea harengus*) and perch (*Perca fluviatilis*): implications for environmental status assessments, *Marine Pollution Bulletin*. 2014. Vol. 78. No. 1–2. P. 130–136.
- Ecological problems of the Upper Volga. Yaroslavl': Izd-vo YaGTU, 2001. 427 p.
- European Parliament and the Council of the EU. Directive 2008/56/EC, establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy (Marine Strategy Framework Direc-

- tive), Official Journal of the European Union. 2008. L164. P. 19–40.
- Gül A., Yılmaz M., Benzer S., Taşdemir L. Investigation of zinc, copper, lead and cadmium accumulation in the tissues of *Sander lucioperca* (L., 1758) living in Hirfanlı Dam Lake, Turkey, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2011. Vol. 87. No. 3. P. 264–266.
- Grigor'eva I. L. Lupanova I. A. Krutenko S. A. Current state of the water quality in Uglich water reservoir according to monitoring observations data, Tezisy dokladov X Vserossiyskoy konferencii po analizu ob'ektov okruzhayuscheny sredy. Uglich: Filigran', 2016. P. 40.
- Marchetti C. Role of calcium channels in heavy metal toxicity, ISRN Toxicology. Vol. 2013. P. 1–9.
- Milestone Inc. Animal tissue. Application field: Clinical, Pharmaceutical. Digestion Application Note DG-CL-02. Shelton, CT, USA: Milestone Inc., 2008.
- Subotić S., Višnjić Jeftić Ž., Spasić S., Hegediš A., Krpo-Ćetković J., Lenhardt M. Distribution and accumulation of elements (As, Cu, Fe, Hg, Mn, and Zn) in tissues of fish species from different trophic levels in the Danube River at the confluence with the Sava River (Serbia), Environmental Science and Pollution Research International. 2013. Vol. 20. No. 8. P. 5309–5317.
- Türkmen M., Tepe Y., Türkmen A., Kemal Sangün M., Ateş A., Genç E. Assessment of heavy metal contamination in various tissues of six ray species from İskenderun Bay, northeastern Mediterranean Sea, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2013. Vol. 90. No. 6. P. 702–707.
- Usero J., González-Regalado E., Gracia I. Trace Metals in the Bivalve Mollusc *Chamelea gallina* from the Atlantic Coast of Southern Spain, Marine Pollution Bulletin. 1996. Vol. 32. No. 3. P. 305–310.
- Vaseem H., Banerjee T. K. Contamination of metals in different tissues of rohu (*Labeo rohita*, Cyprinidae) collected from the Indian River Ganga, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2013. Vol. 91. No. 1. P. 36–41.
- Yohannes Y. B., Ikenaka Y., Nakayama S. M., Saengtienchai A., Watanabe K., Ishizuka M. Organochlorine pesticides and heavy metals in fish from Lake Awassa, Ethiopia: Insights from stable isotope analysis, Chemosphere. 2013. Vol. 91. No. 6. P. 857–863.
- Zubcov E., Zubcov N., Ene A., Biletschi L. Assessment of copper and zinc levels in fish from freshwater ecosystems of Moldova, Environmental Science and Pollution Research International. 2012. Vol. 19. No. 6. P. 2238–2247.