

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БОТУЛОТОКСИНОВ

К.В. Скирдин

Научный руководитель – ассистент М.С. Егорова

Национальный исследовательский Томский политехнический университет  
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, kvs21@tpu.ru

В настоящее время в практике лабораторного анализа широко применяются электрохимические методы, обладающие высокой чувствительностью, точностью, селективностью и экспрессностью, при сохранении возможности автоматизации процесса [1].

Большинство бактерий в результате своей жизнедеятельности продуцируют токсины, являющиеся основной причиной вирулентности. Один из наиболее опасных токсинов – ботулотоксин, являющийся продуктом жизнедеятельности *Clostridium botulinum* возбудителя ботулизма. Наибольшую опасность с точки зрения вирулентности представляет отравление ботулотоксином содержащимся в большом количестве в пище, зараженной *Clostridium botulinum*, чаще всего в продуктах легкой консервации [2].

Действующий в настоящее время международный ГОСТ 10444.7-86 устанавливает стандартный метод определения ботулотоксина в продуктах. Данный метод включает в себя изготовление питательной среды, прививку двум мышам инактивированной инъекции, с последующим наблюдением в течение не менее 72 часов. Метод включает в себя многоэтапный процесс последовательного десятикратного разбавления исходной пробы в целях определения титра ботулотоксина. Изначально подбирают такие концентрации исходной пробы, при которой погибают все мыши, проводят дальнейшее последовательное разбавление до концентрации, при вакцинации которой мыши не погибают [3]. Представленный метод сложен, не экспрессен, отсутствует возможность автоматизации процесса. В связи, с чем проблема определения ботулотоксина и поиска новых методов его определения является актуальной задачей.

Целью данной работы является оценка перспектив вольтамперометрического определения ботулотоксина.

В целях увеличения чувствительности воль-

тамперометрического определения ботулотоксина, целесообразно применение медиаторов, уменьшающих перенапряжение на границы раздела электрод-раствор. В качестве медиаторов наиболее широкое применение нашли металлы платиновой группы, металлы первой и восьмой группы снижающие перенапряжение за счет образования комплексов. Проведя анализ характеристик металлов можно сделать вывод, что наиболее оправданным является использование Ag и Cu, отличающихся выгодными физико-экономическими показателями.

Согласно принципу мягких и жестких кислот и оснований (МЖКО) Пирсона, в соответствии с которым радикалы  $-SH$   $-RS$ , находящиеся в ботулотоксине являются мягкими основаниями, в свою очередь предпочтительно будут реагировать с мягкими кислотами  $Cu^+$ ,  $Ag^+$ . В естественных условиях ботулотоксин окружен комплексами белков, которые диссоциируют в нейтральной среде, с образованием серосодержащих ионов. Наибольшим сродством к сере, из представленных катионов металлов первой и восьмой групп обладает  $Cu^+$ . Именно с медью в первую очередь будет происходить образование комплексного химического соединения. на поверхности электрода, за счет чего увеличиться чувствительность метода, будет достигнут необходимый уровень селективности. Поскольку ботулотоксин устойчив в слабом растворе HCl выбираем его в качестве буфера, в концентрации 7 г-экв/л, поскольку именно при такой концентрации значение проводимости раствора HCl максимально, что способствует уменьшению перенапряжения на электроде.

Исследуемые перспективы вольтамперометрического определения ботулотоксина, в выбранных, наиболее оптимальных, по мнению автора, условиях требуют дальнейших изысканий, проверки представленных оценок опытным путем.

### Список литературы

1. Серебникова Н.В. *Вольтамперометрия. учеб. пособие. – 2-е изд., перераб. и доп.* / Н.В. Серебренникова, Н.В. Иванова. – Кемерово: Кузбассвузиздат, 2007. – 81с.
2. Шмит К.К. *Бактериальные токсины: друзья или враги?* / Мейсик К.С., О'Браэн А.Д. // *Emerging Infectious Diseases*, 1999. – Т.5. – С.224–233.
3. ГОСТ 10444.7-86 *Продукты пищевые. Методы выявления ботулинических токсинов и Clostridium botulinum.* Введ. 01.07.1987. – М.: ГУП ЦПП, 1987.

## ВЫЯВЛЕНИЕ НАИБОЛЕЕ СПЕЦИФИЧНЫХ ЛЕТУЧИХ МЕТАБОЛИТОВ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ПРОБАХ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКИХ И ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ

В.И. Скоморощенко

Научный руководитель – к.х.н., доцент В.В. Шелковников

*Национальный исследовательский Томский государственный университет  
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 36, skomoroshchenko@mail.ru*

Бронхолегочные заболевания дают основной вклад в смертность от онкологических заболеваний. Это обусловлено тем, что 84% случаев диагностируется на поздних стадиях. Например, в мире в 2008 году было выявлено 1,5 млн. случаев с раком легких и 1,3 млн. смертельных исходов от данной формы онкологии [1, 2].

На сегодняшний день особые перспективы имеет неинвазивная диагностика бронхолегочных заболеваний на основе анализа компонентного состава проб выдыхаемого воздуха (ПВВ). Выдыхаемый пациентом воздух содержит летучие метаболиты, которые могут использоваться в качестве потенциальных биомаркеров для диагностики различных патологических состояний на ранней стадии [3].

Цель настоящей работы – разработка газохроматографической методики определения летучих органических соединений (ЛОС) в пробах выдыхаемого воздуха.

В настоящей работе с помощью метода газовой хроматографии и масс-спектрометрии совместно с твердофазной микроэкстракцией (ТФМЭ) осуществлялся поиск наиболее специфических летучих метаболитов на основе компонентного состава ПВВ. В результате исследований было идентифицировано 19 соединений. Хочется отметить, что в выдыхаемом воздухе больного раком легких присутствует большее количество компонентов по сравнению с выдыхаемым воздухом здорового человека. При раке легких наблюдается повышенное содержание алканов, таких как гексан, октан и декан,

производных бензола, а также этилацетата и N-этилформамида. Кроме того, некоторые вещества (метиленхлорид, пентан и ацетонитрил), обнаруженные у онкологических больных, также присутствуют в газовых образцах здоровых людей с меньшим содержанием.

Использование газохроматографического анализа позволяет довести технологию диагностики рака легких на основе исследования летучих метаболитов в выдыхаемом воздухе до уровня рутинных применений. Поэтому в рамках клинического исследования было решено перенести методику для определения летучих метаболитов на газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором с предварительным концентрированием веществ методом ТФМЭ, с целью понижения стоимости анализа и демонстрации возможности использования газохроматографического оборудования в этой области исследования.

Результаты исследований показали, что метиленхлорид, пентан, ацетонитрил, толуол присущи больным раком легких и здоровым, с изменением вклада, следовательно, в качестве наиболее специфических метаболитов они могут использоваться только с применением методов статистической обработки. У всех больных раком легких обнаруживается О-ксиллол, следовательно, его можно использовать как достаточное условие в качестве наиболее специфического летучего метаболита с точки зрения разделения больных раком легких и здоровых добровольцев.