РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
НАУЧНЫЙ СОВЕТ РАН ПО АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ
КОМИТЕТ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ДУМЫ ПО ОХРАНЕ ЗДОРОВЬЯ
КОМИТЕТ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ДУМЫ ПО ПРИРОДНЫМ РЕСУРСАМ,
ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЮ И ЭКОЛОГИИ
ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ И НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ им. Н.С. КУРНАКОВА РАН

I Всероссийская конференция
с международным участием

«ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И МЕДИЦИНА»

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

09–12 ноября 2015
Москва

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ФТАЛАТОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ

Уланова Т.С., Карнажицкая Т.Д.
Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», Пермь, Россия

Фталаты – сложные эфиры о-фталевой кислоты, синтетические вещества, используемые в качестве добавок и пластификаторов при производстве полимерных материалов промышленного, бытового, пищевого и медицинского назначения. Фталаты относятся к стойким органическим загрязнителям и широко распространены в окружающей среде (природных водах, донных отложениях, почве, продуктах растительного и животного происхождения, питьевой воде, домашней пыли и т.д.). Повсеместное присутствие фталатов обуславливает их поступление в организм, что увеличивает риск возникновения заболеваний. Негативное действие фталатов проявляется в разрушении эндокринной системы, тератогенном, антиандрогенном эффектах, канцерогенезе отдельных представителей (ди-(2этилгексил)фталат).

Проведены исследования по разработке и апробации методики определения метаболитов фталатов (монометилфталата, монобутилфталата, монобензилфталата моно-2-этилгексилфталата) в биологических средах (моча) для оценки воздействия химических факторов среды на здоровье населения. Анализ свободных монофталатов в биосредах проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией ((ВЭЖХ/МС), обеспечивающим высокую селективность и чувствительность определения. Извлечение аналитов из биопроб проводили методом твердофазной экстракции на сорбенте Oasis HLB.

В ходе апробации методики выполнены исследования содержания метаболитов фталатов в моче детей в возрасте 4-7 лет, посещающих детские дошкольные учреждения и проживающих на территориях с различной экологической нагрузкой (1 группа, n=21 и 2 группа, n=19). В результате исследований установлено, что из 4-х метаболитов в моче в свободном виде присутствует монометилфталат (ММФ) в 63 % биопроб в диапазоне концентраций от 0,0004 до 0,012 мг/дм^3. Среднегрупповое значение концентрации ММФ в моче детей 1 группы составило 0,0013±0,0004 мг/дм^3, диапазон измеренных значений 0,0004-0,0068 мг/дм^3, доля положительных результатов 57 %. Во 2 группе среднегрупповая концентрация ММФ в моче детей – 0,0049±0,0014 мг/дм^3, диапазон измеренных значений ММФ 0,004-0,012 мг/дм^3, доля положительных проб 73 %. Присутствие в моче свободного монометилфталата связано с метаболизмом, направленным с одной стороны, на гидролиз фталатов с образованием моноэфиров, с другой – с тем, что фталаты с длинными алкильными цепями распадаются на короткоцепочечные фталаты и затем выводятся из организма. Растворимость монометилфталата в воде составляет 1,76 мг/дм^3, и его выведение из организма в свободной форме, не связанной с глюкуроновой кислотой, вполне вероятно, что подтверждают настоящие исследования.

При сравнении двух обследованных территорий установлено, что дети из группы № 2 оказались более подвержены действию фталатов по сравнению с детьми из группы № 1 (межгрупповое различие по средним (p)<0,05), что предполагает различные источники выделения и путей поступления фталатов в организм, включающие взвешенные вещества (пыль), продукты питания, упакованные в пластик, выщелачивание из игрушек, воздух помещений, питьевая вода и другие.

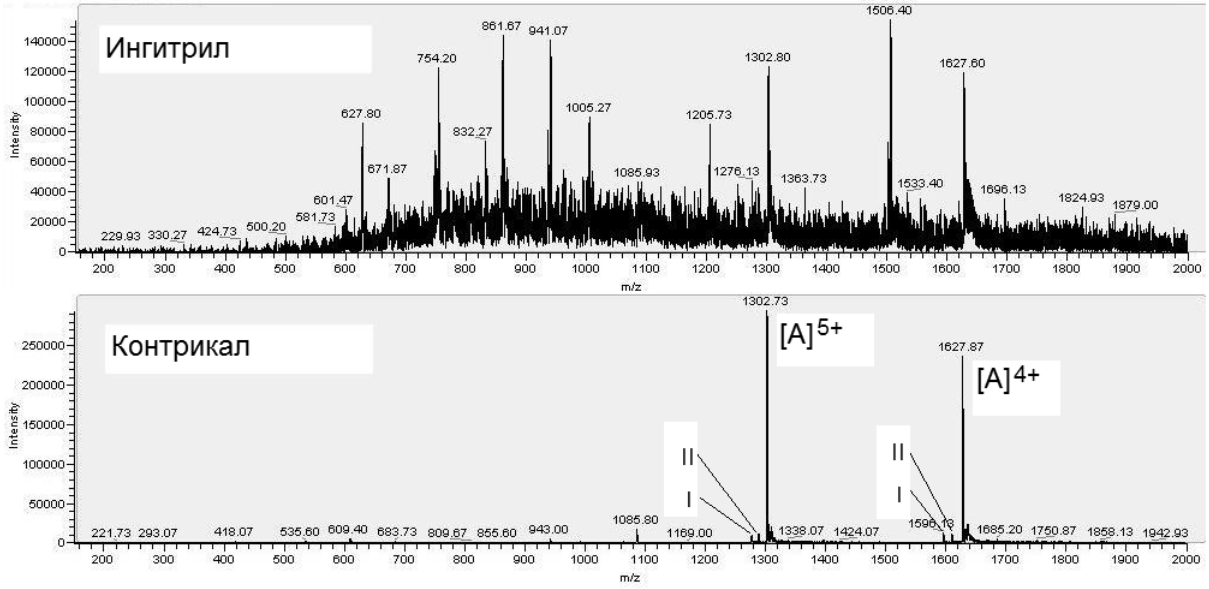
В результате исследований обнаружено присутствие свободного монометилфталата в моче детей, что может быть использовано для доказательства и оценки воздействия фталатов, присутствующих в объектах окружающей среды, на здоровье.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА ПРЕПАРАТОВ АПРОТИНИНА МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС

Хасанов В.В., Дычко К.А., Куряева Т.Т., Томилова Е.В.
Томский государственный университет, Томск, Россия
serga01net@yandex.ru

Апротинин – игибитор сериновых протеаз, полипептид из 58 аминокислотных остатков (АКО) со стабильной третичной структурой, является одним из наиболее хорошо охарактеризованных белковых соединений. Производится генноинженерными способами, а также из животного сырья и выпускается под различными торговыми марками, в России (Ингитрил и др.) и за рубежом (Контрикал и др.).

Контроль качества препарата описан в Европейской Фармакопее (ЕР) с использованием метода зонного капиллярного электрофореза (CZE) [1]. Контролируемыми примесями являются два полипептида, в 56 АКО (дез-Ала-дез-Гли-Апротинин, I) и 57 АКО (дез-Ала-Апротинин, II). Согласно ЕР, препарат разделяют методом CZE и контролируют наличие пиков соединений I и II, время миграции которых составляет 0,98 и 0,99 от времени миграции Апротинина, а интенсивность пиков примесей не превышает 8,0 и 7,5% от основного пика, соответственно. Однако подобная процедура не является вполне удачной при контроле недостаточно чистых препаратов.



Для контроля качества препаратов коротких пептидов и небольших белков может быть с успехом применена техника ВЭЖХ-МС с электроспреем (ESI) в качестве интерфейса. Относительно короткие пептиды при прямом введении в ESI+ дают отчетливые пики многозарядных ионов (на рисунке – $[A]^{5+}$ и $[A]^{4+}$, соответствующие Апротинину), которые могут быть легко интерпретированы и количественно определены. Ниже приведены масс-спектры двух препаратов: Ингитрил (лиофилизат из ампулы 15 ЕД, в разведении 0,5 мг/мл и препарат Контрикал 10000 АТрЕ, в таком же разведении).

Литература

1. Monograph 01/2011:0579 – Aprotinin. European Pharmacopoeia, 7th ed., EDQM, Strasbourg, France , 2011. p. 1409.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛЮТЕНА В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРА́ЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕА́КЦИИИ (ПЦР)

Цверава А.У.[1], Шилина Н.М.[2], Хомутова Е.Г.[1]

[1]Московский Государственный Университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

[2]Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Научно-исследовательский институт питания”, Москва, Россия

Контроль содержания количества глютена в пищевых продуктах играет ключевую роль в обеспечении качества пищевых продуктов, предназначенных для больных целиакией. Целиакия (глютеновая энтеропатия) – это хроническое, прогрессирующее, наследственно обусловленное заболевание, характеризующееся стойкой непереносимостью определённых белковых фракций (проламинов) злаковых культур (пшеницы, ржи, ячменя и овса), имеющих обобщенное название «глютен». Целиакия не исчезает с возрастом и на фоне лечения. Единственным методом лечения целиакии и профилактики ее осложнений является строгая и пожизненная безглютеновая диета.

На сегодняшний день разработаны методические указания МУК 4.1.2880-11 «Методы определения глютена в продовольственном сырье и пищевых продуктах», позволяющие определить загрязнение продуктов глютеном ржи, пшеницы, ячменя с помощью иммуноферментного метода анализа (ИФА), однако данный метод не позволяет детектировать загрязнения продуктов глютеном овса.

В настоящее время, предложен ПЦР-метод для выявления глютена овса. По сравнению с альтернативными аналитическими методами, основанными, например, на идентификации белка (ИФА), ПЦР имеет существенное преимущество: молекула ДНК является достаточно стабильной, что позволяет проводить ее достоверное определение. Предложенный ПЦР-метод обладает высокой специфичностью и чувствительностью определения (около 5 копий ДНК). Кроме того, имеет практические преимущества возможность анализа всех параметров после одной процедуры выделения ДНК, включая внутренний контроль амплификации в одном определении.

Однако, данный метод не получил широкого распространения, ввиду отсутствия его метрологической аттестации, поэтому целью работы было апробировать и метрологически аттестовать количественный ПЦР – метод для определения остаточных количеств глютена овса и других злаковых в безглютеновых продуктах.

В методе использованы тест-система для выделения и очистки ДНК SureFood Prep Advanced, лабораторный референс-материал SureFood QUANTARD Allergen 40 и набор для количественного определения ДНК глютена SureFood Allergen QUANT Gluten (производство фирмы R-Biopham, Германия).

Проведена метрологическая аттестация количественного ПЦР-метода определения глютена в овсе. Получены следующие характеристики: диапазон определяемых концентраций от 1 до 400 мг глютена/кг пробы, при Sr не более 0,06. Правильность результатов подтверждена методом добавок и по референс-материалу, с содержанием глютена 40 ppm.