

Иммунохимические методы определения хлорацетанилидных гербицидов

Нартова Юлия Викторовна

аспирант

*Липецкий государственный технический университет,
металлургический факультет, г. Липецк, Россия*

E-mail: ermolaeva@stu.lipetsk.ru

Исследована возможность определения следовых концентраций хлорацетанилидных гербицидов (ацетохлор, бутахлор и алахлор) в объектах окружающей среды (ПДК в поверхностных и питьевых водах составляет 2,0 и 0,1 нг/мл) и пищевых продуктах методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа (ПФИА) и с применением массочувствительного пьезокварцевого иммуносенсора.

Изучено влияние структуры и степени очистки трейсера (аналит, меченый флуоресцентной меткой) на аналитический сигнал, чувствительность и селективность определения гербицидов методом ПФИА. Выбор оптимальной пары иммунореагентов осуществляли с учетом максимального значения поляризации флуоресценции, возможно более широкого линейного диапазона зависимости поляризации флуоресценции от степени разведения антител и величины аналитического сигнала. Рассчитаны константы связывания трейсер-антитело (K_T) и антиген-антитело (константа аффинности K_{Af}) и выбраны оптимальные пары иммунореагентов для определения гербицидов. Градуировочные графики для всех соединений линейны в диапазоне концентраций 10,0-100,0 нг/мл; предел обнаружения - 8 нг/мл.

В качестве рецепторного покрытия пьезокварцевого сенсора использовали гаптен-белковые конъюгаты (AMPA-BSA, BMPA-BSA, BMPA-STI, Ala-MPA-BSA, Ala-MPA-STI, C4-BSA, C4-STI) различного строения, иммобилизованные на предварительно силанизированную поверхность серебряных электродов. При проведении анализа пробу объемом 5 мкл наносили на поверхность сенсора, выдерживали до завершения иммунохимической реакции. Несвязавшиеся иммунореагенты удаляли фосфатным буферным раствором, сенсор высушивали и измеряли его аналитический сигнал на воздухе относительно сенсора сравнения. Выбор комплементарных пар иммунореагентов, обеспечивающих максимальный аналитический сигнал сенсора, осуществлен с учетом констант аффинности (K_{Af}), установленных методом Скэтчарда. Использование иммунореагентов с максимальными значениями K_{Af} - $4,3 \times 10^{12}$; $13,0 \times 10^8$; $16,1 \times 10^8$ М⁻¹ для бутахлора (BMPA-STI), ацетохлора (AMPA-BSA) и алахлора (C4-STI), соответственно, позволяет обнаруживать ацетохлор и алахлор на уровне 0,02 нг/мл, бутахлор – 0,002 нг/мл.

Для оценки селективности рассчитаны коэффициенты перекрестного реагирования, которые не превышают для структурных аналогов хлорацетанилидных гербицидов 5%, а гербицидов других классов – 0,01%. Показана возможность проведения группового определения всех хлорацетанилидных гербицидов методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа с применением трейсеров различного строения, что особенно актуально при анализе проб неизвестного состава.

Разработанные методики апробированы при определении остаточных количеств гербицидов в объектах окружающей среды (вода, почва) и пищевых продуктах (колбасные изделия, рис, молоко, яблочный сок).

Методика ПФИА позволяет проводить экспрессное определение (2 мин) относительно высоких концентраций гербицидов, поэтому она может быть рекомендована для скрининга, в то время, как при применении пьезокварцевого иммуносенсора возможно детектирование хлорацетанилидных гербицидов на уровне ПДК и ниже.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и администрации Липецкой области (грант № 06-03-96339_р_центр_а).

Автор выражает благодарность научным руководителям: профессорам, д.х.н. Ермолаевой Т.Н. и д.х.н. Еремину С.А.