

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ВОПРОСЫ ХИМИИ

УДК 615.074

DOI: 10.17223/24135542/7/4

В.И. Скоморощенко, О.В. Пенкова, Ю.В. Кистенев, А.В. Борисов

*Национальный исследовательский Томский государственный университет
(Россия, г. Томск)*

Выявление наиболее специфичных летучих метаболитов методом газовой хроматографии в пробах выдыхаемого воздуха больных раком легких и здоровых добровольцев

Представлены основные результаты качественного и количественного анализа выдыхаемого воздуха больных раком легких и здоровых добровольцев, полученные методом газовой хроматографии. Анализ газовых биопроб позволяет проводить неинвазивную диагностику рака легких на ранних стадиях среди обследуемых с помощью определения летучих органических соединений в воздухе. Концентрирование летучих органических соединений осуществляли с использованием твердофазной микроэкстракции.

Ключевые слова: рак легких; летучие органические соединения; метаболиты; диагностика; газовая хроматография.

Введение

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 г. было выявлено 1,5 млн случаев заболеваний раком легких (РЛ) и 1,3 млн смертельных исходов от данной формы онкологии [1, 2].

Одной из главных проблем в данной области остается позднее выявление злокачественных опухолей в амбулаторно-поликлинических учреждениях.

Наиболее эффективными считаются методы неинвазивной диагностики злокачественных новообразований, использующие рентгенологические, магнитно-резонансные, радионуклидные методы исследования [3].

Особые перспективы имеет неинвазивная диагностика бронхолегочных заболеваний на основе анализа компонентного состава проб выдыхаемого воздуха. Например, в работах [4–9] было выявлено статистически значимое повышение концентрации ЭТ-1 в конденсате выдыхаемого воздуха у

больных с немелкоклеточным РЛ по сравнению со здоровыми добровольцами, обнаружено повышение концентрации бутанола-1 и 3-гидрокси-2-бутанона в выдыхаемом воздухе больных РЛ, которое свидетельствует об усилении окислительных процессов, характерных для рака, с помощью метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС) и дискриминантного анализа обнаружены десятки летучих соединений, концентрация которых существенно менялась в зависимости от заболевания.

Также в работе [10] было установлено, что в сравнении с выдыхаемым воздухом здоровых людей [11] при раке легкого наблюдается повышенное содержание алканов, таких как гексан, метилпентан и производные бензола [10, 12], стирина, производных гептана, декана, производных циклопентана, октана, бутадиев циклогексана, гепатенала, нонана [13]. Данные результаты были получены методом ГХ-МС.

В работе [12] при помощи метода ГХ-МС были зарегистрированы при раке легких повышенные концентрации смеси ацетона, метилкетона и n-пропанола.

В данной работе с помощью метода ГХ-МС осуществлялся поиск наиболее специфических летучих метаболитов на основе компонентного состава проб выдыхаемого воздуха (ПВВ).

Для реализации поставленной цели нужно было решить следующие задачи:

1. Разработать условия газохроматографического разделения летучих органических соединений в газовых биопробах.
2. Идентифицировать с помощью ГХ-МС летучие органические соединения (ЛОС) в выдыхаемом воздухе.
3. Перенести разработанные на ГХ-МС условия на газовый хроматограф.
4. Проанализировать серию образцов ПВВ.

Экспериментальная часть

Отбор проб. Выдыхаемый воздух отбирался при помощи пробоотборника Bio-VOC breath sampler объемом 100 мл (рис. 1). Условия отбора проб выдыхаемого воздуха от добровольцев заключались в следующем:

1) забор проб осуществлялся натощак, утром в одно и то же время, до приема пищи, для курящих – до курения в день отбора пробы;

2) перед взятием пробы выдыхаемого воздуха доброволец многократно прополаскивал ротовую полость кипяченой водой (при отсутствии – проточной водой).

Во время отбора пробы доброволец трижды спокойно (до полного опустошения легких) выдыхал через одноразовый мундштук. Далее пробоотборник закрывался пробкой и вкручивался поршень, что обеспечивало стабильность хранения пробы при транспортировке.

Пробоотборник Bio-VOC breath sampler использовался многократно с применением нового мундштука после обязательной процедуры очистки.



Рис. 1. Пробоотборник Bio-VOC breath sampler

Для осуществления транспортировки всех отобранных проб применялся специальный ящик для перевозки медицинских анализов, который поддерживает температуру, близкую к комнатной, внутри ящика во время транспортировки. Время транспортировки и хранения проб выдыхаемого воздуха составляло не более 4 ч.

Микроэкстракция летучих органических соединений. Уровень концентрации летучих органических соединений в газовых биопробах очень мал, следовательно, используемый аналитический метод должен включать в себя этап концентрирования. Альтернативой этим методам является твердофазная микроэкстракция (ТФМЭ), которая позволяет достичь пределов обнаружения летучих органических соединений в выдыхаемом воздухе на уровне 1 ppm и ниже.

Адсорбцию ЛОС осуществляли из пробоотборника путем погружения иглы шприца Supelco, содержащей внутри нее для инъекции стержень, покрытый неподвижной жидкой фазой состава Carboxen/Polydimethylsiloxane (CAR/PDMS) 85 мкм, в анализируемый воздух. Для полноты извлечения веществ время адсорбции составляло 30 мин при комнатной температуре.

Анализ данных. Качественное определение летучих органических соединений в выдыхаемом воздухе осуществляли с использованием комплекса, состоящего из газового хроматографа Finnigan Trace GS и масс-спектрометра Finnigan Trace DSQ при следующих оптимальных условиях: способ ионизации – электронный удар; колонка Supel-Q™ PLOT длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм (производитель Thermo Scientific); температура испарителя 200°C; температура интерфейса 200°C; температура термостата 40°C в течение 1 мин, увеличение температуры до 250°C со скоростью 10°C/мин; газ-носитель – гелий (марка «60»); диапазон сканирования масс 50–650 а.е.м.

Обработку полученных данных проводили в программе Qual Browser программного обеспечения Xcalibur. Для идентификации летучих органических соединений полученные спектры веществ в анализируемой пробе сравнивали со спектрами веществ в библиотеке масс-спектров NIST MS

Search 2.0. Соединение считалось идентифицированным на хроматограмме, если его сигнал превышал по высоте уровень шума в два раза, а вероятность присутствия составляла $\geq 90\%$. Однако некоторые компоненты не были идентифицированы, что связано с селективностью детектирования и идентификацией спектров и обусловлено совпадением величин M/z для соединений.

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 определения летучих метаболитов на газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором с целью понижения стоимости анализа и демонстрации возможности использования газохроматографического оборудования в этой области исследования.

Идентификацию веществ методом газовой хроматографии осуществляли по временам удерживания компонентов. Для этого использовались индивидуальные вещества, которые представляли собой Государственные стандартные образцы (ГСО) и стандартные образцы предприятия (СОП). Образцы вводились с помощью газового микрошприца в количестве 0,2 мкл в устройство ввода пробы газового хроматографа «Хроматэк–Кристалл 5000.2» с пламенно-ионизационным детектором при следующих условиях анализа: колонка Supel-QTM PLOT длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм; температура термостата колонок 40°C в течение 1 мин, увеличение температуры до 250°C со скоростью 10°C/мин; температура испарителя 200°C; температура инжектора 200°C; газ-носитель – гелий (марка «А»).

На рис. 2–3 приведены типичные хроматограммы анализа выдыхаемого воздуха больного раком легких и здорового добровольца соответственно. По временам удерживания на хроматограммах в условиях ГХ-анализа идентифицировано 19 компонентов.

Из приведенных хроматограмм видно, что в выдыхаемом воздухе больного раком легких присутствует большее количество компонентов по сравнению с выдыхаемым воздухом здорового человека. Хочется отметить, что некоторые вещества (метиленхлорид, пентан и ацетонитрил), обнаруженные у онкологических больных, также присутствуют в газовых образцах здоровых людей с меньшим содержанием. Кроме того, в пробах группы контроля наблюдается присутствие в незначительных количествах толуола.

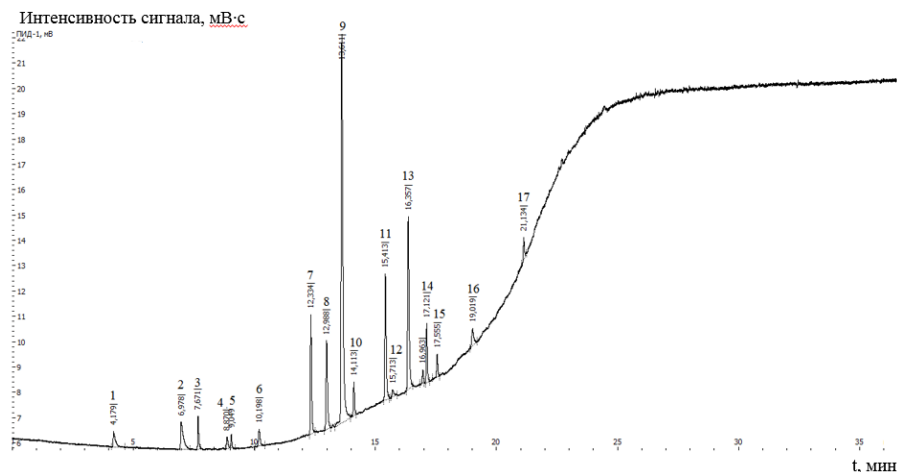


Рис. 2. Хроматограмма выдыхаемого воздуха больного раком легких:
 1 – метанол; 2 – этанол; 3 – ацетонитрил; 4 – ацетон; 5 – метиленхлорид; 6 – пентан;
 7 – этилацетат; 8 – гексан; 9 – бензол; 10 – хлоропропиленоксид; 11 – N-этилформамид;
 12 – октан; 13 – толуол; 14 – бутилацетат; 15 – хлорбензол; 16 – о-ксилол; 17 – декан

Также были отсняты бланковые хроматограммы фазы шприца Supelco и воздуха, отобранного из аудитории, где проводился анализ. Проведенные испытания дали отрицательный результат, что свидетельствует о том, что все вещества, которые были зарегистрированы на хроматограммах анализа проб выдыхаемого воздуха, были извлечены непосредственно из выдыхаемого воздуха добровольцев. Фаза со шприца и пробоотборник погрешности в анализ не вносят.

Результаты и их обсуждение

При проведении количественного расчета измеряли отклик анализируемого компонента на регистрируемой хроматограмме и по построенной градуировочной зависимости рассчитывали его концентрацию. На основе полученных результатов выявлены наиболее специфические летучие метаболиты с точки зрения разделения пациентов, страдающих раком легких и здоровых добровольцев.

В табл. 1–2 показаны площадь пика и соответствующие концентрации ЛОС в ПВВ больных РЛ и здоровых добровольцев по 10 человек в каждой группе.

Из сравнения табл. 1–2 видно, что:

– метиленхлорид, пентан, ацетонитрил, толуол присущи больным РЛ и здоровым с изменением вклада, следовательно, в качестве наиболее специфичных метаболитов они могут использоваться только с применением методов статистической обработки;

– у всех больных раком легких обнаруживается О-ксилол, следовательно, его можно использовать как достаточное условие в качестве наиболее специфичного летучего метаболита с точки зрения разделения больных раком легких и здоровых добровольцев.

Т а б л и ц а 1

Концентрации ЛОС в ПВВ больных РЛ

Наименование вещества	Площадь пика (концентрация, ppm)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Метанол	3,95 (1,09)	0	0,31 (0,02)	0,58 (0,10)	0	0	0	0	0,33 (0,03)	0,81 (0,17)
Этанол	8,5	0	0	0	0	0	0	0	0,527	0
Ацетонитрил	4,04 (0,37)	0	0,57 (0,20)	1,05 (0,22)	2,18 (0,28)	1,28 (0,23)	2,34 (0,29)	1,47 (0,24)	2,43 (0,29)	2,50 (0,30)
Ацетон	1,90 (0,04)	0	2,95 (0,06)	4,49 (0,08)	1,13 (0,03)	0	1,73 (0,04)	0,56 (0,02)	5,58 (0,10)	0
Метиленхлорид	1,6	11,98	8,70	10,03	3,52	6,65	4,91	7,97	11,54	3,99
Пентан	3,13	3,51	1,25	1,18	4,74	4,13	1,29	5,35	1,05	4,88
Этилацетат	16,38 (0,07)	0	0,35 (0,02)	0,35 (0,02)	0	0	0	0	0	1,11 (0,02)
Гексан	15,06	0	2,07	3,42	0,94	6,34	8,30	1,51	5,03	0
Бензол	82,34	0,43	14,64	13,13	0	5,16	5,57	1,19	228,7	0
Хлоропропиленоксид	4,513	0	0	0	35,57	2,77	10,96	3,563	0	1,11
N-этилформамид	20,04	0		0	0	0	0	0	0	0
Октан	2,35	0,32	6,32	9,29	0	0	0	0	0	0
Толуол	29,67 (0,13)	0,29 (0,09)	10,21 (0,10)	14,00 (0,11)	5,42 (0,10)	9,08 (0,10)	19,50 (0,12)	6,978 (0,10)	33,62 (0,13)	0,90 (0,09)
Бутилацетат	7,51	0,42	0	0	0	0	0	0	0	0
Хлорбензол	3,01	0	0	0,78	0	0	0	0	86,03	0,66
О-ксилол	4,32 (0,04)	0,37 (0,03)	3,486 (0,04)	4,80 (0,04)	6,59 (0,04)	7,59 (0,04)	38,55 (0,07)	10,72 (0,05)	68,68 (0,09)	0,66 (0,04)
Декан	3,26	0	2,40	2,68	0	0	13,84	0	0	0

Т а б л и ц а 2

Концентрации ЛОС в ПВВ здоровых добровольцев

Наименование вещества	Площадь пика (концентрация, ppm)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Метанол	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Этанол	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ацетонитрил	0,52 (0,20)	0,44 (0,19)	0,58 (0,20)	0,52 (0,20)	0	0	0	0	0	0
Ацетон	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Метиленхлорид	0,92	1,03	0,94	1,29	1,19	3,24	3,46	12,72	3,23	3,11
Пентан	0,34	0,75	0,50	0,58	1,42	1,87	1,28	1,74	2,81	2,62
Этилацетат	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Гексан	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Бензол	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Наименование вещества	Площадь пика (концентрация, ppm)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Хлоропропиленоксид	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N-этилформамид	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Октан	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Толуол	0	0	0	0	0	1,51 (0,1)	0,66 (0,09)	0,53 (0,09)	0	0
Бутилацетат	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Хлорбензол	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
О-ксилол	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Декан	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

С помощью данной методики было установлено, что в сравнении с выдыхаемым воздухом здоровых людей при раке легких наблюдается повышенное содержание алканов, таких как гексан, октан и декан, производных бензола, а также этилацетата и N-этилформамида.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о принципиальной возможности использования газовой хроматографии совместно с ТФМЭ в рамках клинического исследования состава выдыхаемого воздуха на уровне микроконцентраций детектируемых веществ. Количественное определение ЛОС в пробах выдыхаемого воздуха возможно осуществлять на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором.

Такой анализ является актуальным и перспективным подходом для развития новых методов исследований и диагностики в биомедицине и может использоваться как в целях выявления заболевания на ранних стадиях, предсказания реакции организма на конкретный вид лечения, так и для мониторинга эффективности проводимой терапии.

Литература

1. Almond L.M., Barr H., Wood J., Hutchings J., Kallaway C. Advances in the clinical application of Raman spectroscopy for cancer diagnostics // Stone Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. 2013. № 10. P. 207–219.
2. Bigbee W.L., Franklin W., Gold L., Ostroff R.M. et al. Unlocking Biomarker Discovery: Large Scale Application of Aptamer Proteomic Technology for Early Detection of Lung Cancer // PLoS ONE. 2010. № 5 (12). P. e15003 (10 p.)
3. Лучевая диагностика: настоящее и будущее : материалы V съезда специалистов лучевой диагностики Республики Беларусь / под ред. А.Н. Михайлова. Мн. : РУМЦ ФВН, 2005. 464 с.
4. Foschino-Barbaro M.P., Carpagnano G.E. et al. Endothelin Is Increased in the Breath Condensate of Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer // Oncology. 2004. № 66 (3). P. 180–184.
5. Qin T., Song G. et al. Quantitative breath analysis of volatile organic compounds of lung cancer patients // Lung Cancer. 2010. № 67 (2). P. 227–231.

6. Gleeson K., Phillips M. et al. Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study // *The Lancet*. 1999. № 353 (9168). P. 1930–1933.
7. Ager C., Bajtarevic A. et al. Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath // *BMC Cancer*. 2009. №9(348). 16 p.
8. Mochalski P., Ruzsanyi V., Broza Y.Y., Haick H. Amann A. Assessment of the exhalation kinetics of volatile cancer biomarkers based on their physicochemical properties // *J. Breath Res.* 2014. № 8 (1). P. 016003 (11 p).
9. Bajtarevic A., Ager C. et al. Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath // *BMC Cancer*. 2009. Vol. 9. P. 348.
10. Phillips M. Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath // *Anal. Biochem.* 1997. Vol. 247. P. 272–278.
11. Phillips M., Herrera J., Krishnan S., Zain M., Greenberg J., Cataneo R.N. Variations in volatile organic compounds in the breath of normal humans // *J. Chromatograph. B. Biomed. Sci. Appl.* 1999. Vol. 729 (1–2). P. 75–88.
12. Gordon S.M., Szidon J.P., Krotoszynski B.K., Gibbons R.D., O'Neill H.J. Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer // *Clin. Chem.* 1985. Vol. 31. P. 1278–1282.
13. Phillips M., Gleeson K., Hughes J.M.B., Greenberg J., Cataneo R.N., Baker L. Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-section study // *The Lancet*. 1999. Vol. 353. P. 1930–1933.

Авторский коллектив:

Кистенёв Юрий Владимирович, доктор физ.-мат. наук, заместитель проректора по научной работе Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: yuk@iao.ru

Борисов Алексей Владимирович, канд. физ.-мат. наук, доцент кафедры общей и экспериментальной физики Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: borisov@phys.tsu.ru

Пенкова Ольга Валерьевна, младший научный сотрудник лаборатории физико-химических методов анализа Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: olga_v_penkova@mail.ru

Скоморощенко Валерия Игоревна, магистрант химического факультета кафедры аналитической химии Томского государственного университета (г. Томск, Россия). E-mail: skomoroshchenko@mail.ru

Tomsk State University Journal of Chemistry, 2017, 7, 45-54. DOI: 10.17223/24135542/7/4

V.I. Skomoroshchenko, O.V. Penkova, Yu.V. Kistenev, A.V. Borisov

National Research Tomsk State University, (Tomsk, Russia)

Identification of the most specific volatile metabolites by gas chromatography in the exhaled breath of lung cancer patients and healthy volunteers

Bronchopulmonary diseases are the largest contributor to mortality from oncological diseases. For example, 1.5 million lung cancer cases and 1.3 million deaths worldwide from this type of cancer were identified for 2008. 84% of cases are diagnosed in the later stages, and late detection of this cancer in outpatient clinics is one of the main problems in this area.

Today, non-invasive diagnosis of bronchopulmonary diseases, based on the analysis of the component composition of exhaled breath, is especially promising.

In this work, most of the specific volatile metabolites were determined based on the component composition of exhaled breath using gas chromatography and mass

spectrometry in conjunction with solid phase microextraction (SPME). As a result, 19 compounds were identified. Compared to the exhaled breath of healthy people, exhaled breath in lung cancer had an increased content of alkanes, such as hexane, octane, and decane, benzene derivatives, and also ethyl acetate and N-ethylformamide.

Gas chromatographic analysis allows for the routine diagnosis of lung cancer, based on the study of volatile metabolites in exhaled breath. Therefore, in a clinical study, it was decided to transfer the technique for determining volatile metabolites to a gas chromatograph with a flame ionization detector using substances preconcentrated with the SPME method, in order to reduce the cost of analysis and demonstrate the feasibility of gas chromatographic equipment in this area of research.

As a result, it was found that the methylene chloride, pentane, acetonitrile, and toluene found in the exhaled breath of lung cancer patients and healthy subjects differed in the concentration of these components; therefore, as the most specific metabolites, they can be used only with the use of statistical processing techniques. O-xylene is found in all lung cancer patients, and therefore it can be used as the most specific volatile metabolite for separating lung cancer patients from healthy volunteers.

The results suggest the possibility of using gas chromatography in conjunction with SPME in a clinical study the composition of exhaled breath at a level of micro-concentration-detectable substances. Quantitative determination of the volatile organic compounds in exhaled breath is possible to perform on a gas chromatograph with a flame ionization detector.

Such an analysis is a relevant and promising approach to developing new methods of research and diagnostics in biomedicine and can be used to identify the disease in its early stages, predict the reaction of the organism to a particular type of treatment, and monitor the effectiveness of the therapy.

Keywords: lung cancer, volatile organic compounds, metabolites, diagnostics, gas chromatography.

References

1. Almond L. M., Barr H., Wood J., Hutchings J., Kallaway C. Advances in the clinical application of Raman spectroscopy for cancer diagnostics. *Stone Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2013;10:207–219.
2. Bigbee W.L., Franklin W., Gold L. et al., Ostroff R.M. Unlocking Biomarker Discovery: Large Scale Application of Aptamer Proteomic Technology for Early Detection of Lung Cancer. *PLoS ONE*. 2010;5(12):e15003 (10 p.)
3. Radiodiagnostics: Present and Future. Proceedings of the V Congress of the radiation experts diagno-sticks Belarus / ed. AN Mikhailov - Mn.: RUMTS WHF, 2005. 464 p.
4. Foschino-Barbaro M.P. et al. Carpagnano G.E. Endothelin Is Increased in the Breath Condensate of Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer. *Oncology*. 2004;66(3):180–184.
5. Qin T. et al. Song G. Quantitative breath analysis of volatile organic compounds of lung cancer patients. *Lung Cancer*. 2010;67(2):227–231.
6. Gleeson K. et al. Phillips M. Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study. *The Lancet*. 1999;353(9168):1930–1933.
7. Ager C. et al. Bajtarevic A. Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath. *BMC Cancer*. 2009;9(348):16 pages.
8. Mochalski P., Ruzsanyi V., Broza Y.Y., Haick H. Amann A. Assessment of the exhalation kinetics of volatile cancer biomarkers based on their physicochemical properties. *J Breath Res*. 2014;8(1):016003 (11 pages).
9. Bajtarevic A., Ager C. et al. Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath. *BMC Cancer*. 2009;9:348

10. Phillips M. Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath. *Anal. Biochem.* 1997;247:272–278.
11. Phillips M., Herrera J., Krishnan S., Zain M., Greenberg J., Cataneo R.N. Variations in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *J. Chromatograph. B. Biomed. Sci. Appl.* 1999;729(1–2):75–88
12. Gordon S.M., Szidon J.P., Krotoszynski B.K., Gibbons R.D., O'Neill H.J. Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer. *Clin. Chem.* 1985;31:1278–1282
13. Phillips M., Gleeson K., Hughes J.M.B., Greenberg J., Cataneo R.N., Baker L. Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-section study. *The Lancet.* 1999;353:1930–1933.

Information about authors:

Kistenev Yuriy V., Doctor of Physico-Mathematical Sciences, Deputy Rector for Science of TSU (Tomsk, Russian). E-mail: yuk@iao.ru

Borisov Aleksey V., Candidate of Physico-Mathematical Sciences, Associate Professor of Department General and Experimental Physics of TSU (Tomsk, Russian). E-mail: borisov@phys.tsu.ru

Penkova Olga V., Junior Research Assistant of laboratory of physico-chemical analytical methods of TSU (Tomsk, Russian). E-mail: olga_v_penkova@mail.ru

Skomoroshchenko Valeriya I., Master's Degree Student of Analytical Chemistry Department of Chemical Faculty, of the Tomsk State University (Tomsk, Russian). E-mail: skomoroshchenko@mail.ru