

УДК 543.613.3

## ПРИМЕНЕНИЕ ПЬЕЗОЭЛЕКТРОННОГО НОСА ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У ТЕЛЯТ ПО ЛЕГКОЛЕТУЧИМ СОЕДИНЕНИЯМ

© 2020 г. Т. А. Кучменко<sup>а</sup>, А. А. Шуба<sup>а, \*</sup>, Р. У. Умарханов<sup>а</sup>, Е. В. Дроздова<sup>а</sup>, А. Е. Черницкий<sup>б</sup>

<sup>а</sup> Воронежский государственный университет инженерных технологий,  
факультет экологии и химической технологии  
просп. Революции, 19, Воронеж, 394000 Россия

<sup>б</sup> Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,  
фармакологии и терапии  
ул. Ломоносова, 114Б, Воронеж, 394087 Россия

\*e-mail: an-mishina@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.01.2019 г.

После доработки 22.03.2019 г.

Принята к публикации 02.12.2019 г.

Обсуждаются выбор и применение массива пьезосенсоров для оценки состояния органов дыхания у телят по составу равновесной газовой фазы над конденсатом выдыхаемого воздуха. Рассмотрена взаимосвязь между выходными регистрируемыми, расчетными данными массива сенсоров и состоянием дыхательной системы животного, установленным по результатам клинических и лабораторных исследований. Описаны особенности химического состава равновесной газовой фазы над пробами конденсата выдыхаемого воздуха в норме и при воспалениях. Полученные результаты позволяют рекомендовать массив пьезосенсоров с выбранными модификаторами, регистрируемые и расчетные параметры “электронного носа” для разработки способа экспресс-диагностики воспалительных заболеваний органов дыхания у телят по составу легколетучей фракции конденсата выдыхаемого воздуха.

**Ключевые слова:** пьезосенсоры, электронный нос, параметры сорбции, легколетучие вещества, конденсат выдыхаемого воздуха, заболевания органов дыхания.

**DOI:** 10.31857/S0044450220050114

Современным направлением диагностики является определение ранних маркеров, предшествующих развитию клинических признаков заболевания, для повышения эффективности профилактических и лечебных мероприятий. В ветеринарной медицине наибольшую сложность представляет диагностика воспалительных заболеваний органов дыхания (ВЗОД) у телят [1]. Клиническое проявление и характер патолого-анатомических изменений при ВЗОД различной этиологии у телят первого месяца жизни часто однотипны независимо от вызвавшего болезнь возбудителя [1]. Традиционные гематологические и биохимические маркеры воспаления, такие как изменения лейкограммы, скорости оседания эритроцитов, повышение концентрации белков острой фазы в сыворотке крови, для ранней диагностики ВЗОД у телят оказываются малоинформативными в силу их неспецифичности [2]. Актуальным направлением в диагностике является разработка и применение неинвазивных способов, которые позволяют безболезненно и

быстро проводить процедуру обследования, оценивать состояние органов дыхания и при необходимости корректировать профилактические и лечебные мероприятия.

Выдыхаемый воздух у телят насыщен водяными парами, которые могут быть конденсированы при охлаждении. Помимо водяных паров, конденсат выдыхаемого воздуха (КВВ) содержит целый ряд соединений различной природы: пептиды, жирные кислоты, углеводы, макро- и микроэлементы и др., которые в виде аэрозоля переносятся из нижних отделов респираторного тракта при дыхании. Изменения состава КВВ у телят, отражающие нарушения в работе легких, возникают уже при угрозе развития ВЗОД [1, 2]. Показано, что химический состав КВВ коррелирует с состоянием дыхательной системы и течением заболевания (хроническое, острое) [1], поэтому диагностика ВЗОД по составу КВВ у телят представляет особый научный и практический интерес. Однако концентрации веществ, которые содержатся в

**Таблица 1.** Вещества-маркеры в выдыхаемом воздухе и его конденсате при патологических процессах дыхательной системы и рекомендованные покрытия сенсоров

Патология органов дыхания	Вещества-маркеры в выдыхаемом воздухе или его конденсате	Рекомендованные чувствительные покрытия для сенсоров
Хроническая обструктивная болезнь легких	2-Гидроксиизомаляновая кислота, ацетогидроксибутановая кислота, пиридин [12]	Tween, ДЦГ18К6 [18]
Воспаление	Этан, пентан, СО, NO, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , этилен, изопрен, альдегиды [13–15]	МУНТ, ПЭГ-2000 [19, 20]
Бактериальная обсемененность	Этанол, метанол, ароматические соединения, цианиды, карбоновые кислоты [15–17]	ПЭГ-2000, ПДЭГС, МО [19, 21, 22]
Деструктивные процессы в тканях	CS <sub>2</sub> , серосодержащие соединения, алкиламины [14, 15, 17]	ТХ-100, ПДЭГС, БКС [8, 21–24]

КВВ у телят и характеризуют различные параметры состояния дыхательной системы, чрезвычайно малы и не всегда могут быть выявлены традиционными лабораторными тестами.

Известно, что возможно уловить небольшие различия в составе проб и малые содержания легколетучих веществ сенсорными системами типа “электронный нос”, в том числе на основе модифицированных пьезокварцевых резонаторов [3]. Это позволило поставить задачу применения массива сенсоров для ранжирования проб конденсата выдыхаемого воздуха по результатам анализа равновесной газовой фазы (РГФ) над ними.

Цель исследования – выбрать массив пьезосенсоров, потенциально информативные качественные, количественные характеристики из матрицы данных “электронного носа” для установления значимых различий в составе РГФ над пробами конденсата выдыхаемого воздуха телят и ранжирования их на группы по наличию и характеру течения ВЗОД.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объектов исследования выбраны пробы конденсата выдыхаемого воздуха телят, как условно здоровых, так и с субклиническим и острым течением ВЗОД, замороженные в жидком азоте (табл. 1). Конденсат выделяемого воздуха у телят ( $n = 6$ ) собирали в утренние часы до кормления с помощью специального устройства [4]. Во время процедуры сбора КВВ учитывали объем выдыхаемого теленком воздуха. Сразу после сбора пробы КВВ замораживали и хранили до проведения исследований в жидком азоте при  $-196^{\circ}\text{C}$ . Всех телят подвергали детальному клиническому исследованию с обязательным лабораторным контролем во Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте патологии, фармакологии и терапии: проводили бактериологические и молекулярно-генетические (ПЦР) исследования носовых и трахеальных смывов, опре-

деляли гематологические (лейкограмма) показатели воспаления в крови и КВВ (концентрация малонового альдегида, уровень pH) [2]. Состояние телят при ВЗОД оценивали по балльной системе, разработанной в Университете Висконсин-Мэдисон (США) [5]. Размораживание проб проводили при комнатной температуре в емкостях с притертыми полистирольными крышками в течение 2 ч. Размороженные пробы перед анализом выдерживали при температуре  $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин.

Исследовали состав равновесной газовой фазы над конденсатом объемом 3 мл при  $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$  в статическом режиме на анализаторе газов МАГ-8 с массивом из восьми разноселективных пьезосенсоров (ООО ‘СНТ’, Россия). Фиксировали выходные сигналы пьезосенсоров – относительные изменения частоты колебания каждого пьезосенсора ( $\Delta F_i$ , Гц) во времени с шагом в 1 с в виде хроночастотограмм, аналитические сигналы ( $\Delta F_{\max, i}$ , Гц) в программном обеспечении МАГ-Soft [6].

В качестве селективных покрытий пьезокварцевых резонаторов (ПКР) (ОАО “Пьезо”, Москва, базовая частота 10.0 МГц) для создания сенсоров выбрали фазы, формирующие на электродах ПКР стабильные пленки, обеспечивающие низкий уровень шумов пьезосенсоров, в том числе: полиэтиленгликоль ПЭГ-2000 (ПЭГ-2000 – сенсор 1), дициклогексано-18-краун-6 (ДЦГ18К6 – сенсор 2), метиловый оранжевый (МО – сенсор 3), тритон X-100 (ТХ-100 – сенсор 4), бромкрезоловый синий (БКС – сенсор 5), многостенные углеродные нанотрубки, карбоксилированные азотной кислотой (МУНТ – сенсор 6), полидиэтиленгликоль сукцинат (ПДЭГС – сенсор 7), Tween 40 (Tween – сенсор 8). Все фазы производства компании “Alfa Aesar” (США). Пьезосенсоры изготавливали по описанной ранее методике [7]. Для стабилизации неполимерных реагентов применяли подложку из МУНТ массой 1–2 мкг. МУНТ синтезировали в Институте особо чистых материалов (Черноголовка) [8].

Для оценки постоянства состава РФФ над пробами КВВ применяли расчетные параметры :

1) параметр эффективности сорбции  $A_{ij}^{\max}$  [9]:

$$A_{ij}^{\max} = \Delta F_{\max,i} / \Delta F_{\max,j}, \quad (1)$$

где  $i, j$  – порядковые номера сенсоров в массиве;

2) параметры интегрального аналитического сигнала массива сенсоров – фигуры “визуальных отпечатков” максимальных откликов [10]:  $m_{inj}$ , характеризующий соотношение проекций сигналов сенсоров с пленками  $i$  и  $n$  на сигнал сенсора с пленкой  $j$ , и  $\alpha_{inj}$  – угол между этими проекциями, выраженный в радианах, которые рассчитывали по формулам:

$$m_{inj} = \frac{\sqrt{\Delta F_{\max,i}^2 + \Delta F_{\max,j}^2 - \Delta F_{\max,i} \Delta F_{\max,j} \sqrt{2}}}{\sqrt{\Delta F_{\max,j}^2 + \Delta F_{\max,n}^2 - \Delta F_{\max,j} \Delta F_{\max,n} \sqrt{2}}}, \quad (2)$$

$$\alpha_{inj} = \arcsin \left( \frac{\Delta F_{\max,i} \sqrt{2}}{2\sqrt{\Delta F_{\max,i}^2 + \Delta F_{\max,j}^2 - \Delta F_{\max,i} \Delta F_{\max,j} \sqrt{2}}} \right) + \arcsin \left( \frac{\Delta F_{\max,n} \sqrt{2}}{2\sqrt{\Delta F_{\max,j}^2 + \Delta F_{\max,n}^2 - \Delta F_{\max,j} \Delta F_{\max,n} \sqrt{2}}} \right), \quad (3)$$

где  $i, j, n$  – номера сенсоров в массиве, сенсор  $j$  находится между сенсорами  $i$  и  $n$ .

Для оценки степени идентичности двух наборов расчетных параметров, соответствующих откликам сенсоров для проб от условно здорового животного и из других диагностических групп, применяли параметр подобия  $\delta$  [11], рассчитываемый в Excel. Для расчетов и построений типичных “визуальных отпечатков” применяли статистически надежные средние значения откликов сенсоров ( $n = 3, P = 0.95$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Первым важным этапом при разработке подхода для анализа различных биопроб химическими пьезосенсорами является выбор чувствительных пленок измерительных элементов, позволяющих количественно увидеть различие в составе и малых концентрациях легколетучих соединений (ЛЛС) в РФФ над биопробами. Для этого путем анализа литературы определили вещества-маркеры (биомаркеры) в выдыхаемом воздухе или конденсате, характерные для патологических процессов в органах дыхания (табл. 1). Данные биомаркеры не являются строго специфичными для дыхательной системы, однако заметное повышение их концентрации в выдыхаемом воздухе (до уровня 10–100 ppb) связано в основном с патологией органов дыхания. Накопленные нашей научной группой результаты по сорбции различ-

ных классов ЛЛС на тонких пленках и покрытиях сорбционных фаз разной природы позволяют рекомендовать сорбенты для создания химических пьезосенсоров (табл. 1). Ранее неоднократно обсуждались селективность, чувствительность сенсоров с пленками хроматографических фаз и индикаторов. Совместное применение нескольких сенсоров без разделения смесей паров не обеспечивает изменения избирательности по сигналам сенсоров. Более того, методология “электронных носов”, напротив, принципиально отличается от других подходов в мультисенсорных системах (глаз, язык) неопределенностью этих традиционных характеристик. Решение задачи селективного микровзвешивания на относительно неселективных пленках успешно решается применением идентификационных параметров. Именно экстраемальные значения параметров в выборке соединений обеспечивают их распознавание в смеси. Полученный массив сенсоров позволяет с высокой чувствительностью сорбировать различные классы летучих веществ, включая биомаркеры заболеваний органов дыхания, и следовательно, должен быть эффективен для решения поставленной задачи.

Для оценки стабильности работы пьезосенсоров и погрешности детектирования в закрытой ячейке использовали подход на основе карт Шухарта [25, 26]. Стабильность оценивали по откликам сенсора с пленкой Tween в парах РФФ над раствором уксусной кислоты с концентрацией 0.5 об. % ( $n = 30$ ), так как ранее установлено, что данное покрытие проявляет наибольшую чувствительность к парам кислот и наименее устойчиво по дрейфу базовой линии из предложенного массива сенсоров. На первом этапе проверяли гипотезу о нормальном распределении значений откликов пьезосенсоров в выборках при помощи критерия согласия  $\chi^2$  Пирсона [25, 26]. Проверку нормальности закона распределения проводили на уровне значимости  $\alpha = 0.1$ . Установлено, что выборка значений отклика сенсора подчиняется нормальному распределению в парах уксусной кислоты небольших концентраций, поэтому для оценки стабильности работы измерительных элементов массива “электронного носа” использовали контрольные карты Шухарта среднего и выборочных стандартных отклонений при детектировании паров уксусной кислоты [24, 25].

Построение и анализ контрольных карт позволяет сделать вывод, что пьезосенсоры с пленкой Tween при микровзвешивании паров уксусной кислоты работают стабильно. Погрешность измерения в закрытой ячейке детектирования не превышает 10%, при этом на долю прибора (электрические схемы) приходится до 2%.

Выбранный массив сенсоров применили для оценки состояния дыхательной системы у 6 телят

**Таблица 2.** Результаты биохимического анализа проб конденсата выдыхаемого воздуха и крови исследуемых телят

Группа телят	“Здоровые со стороны дыхательной системы”		“С субклиническим течением ВЗОД”		“С клиническими признаками поражения органов дыхания”	
	1	2	5	6	3	4
Номер пробы	1	2	5	6	3	4
Клиническая оценка состояния телят, баллы	0	1.0	2.0	5.0	10.0	8.0
Температура, °С	38.8	39.0	38.9	39.6	40.5	39.0
Дыхательный объем, мл	587	409	624	633	271	296
Гематологические признаки воспаления	—*	—	+	—	+	+
Микробиоценоз верхних дыхательных путей	—	Геном патогенных микоплазм	<i>E. coli</i> O26, O8; <i>Ent. faecalis</i> ; <i>Asp. flavus</i> ; аденовирус		<i>Ent. faecalis</i> ; <i>Penicillium</i> spp.; <i>Asp. fumigatus</i> ; геном патогенных микоплазм	
Малоновый диальдегид в ВВ, нМ/100 л ВВ	0.121	0.084	0.210	0.180	0.251	0.390
рН КВВ	7.35	7.32	7.34	7.58	7.63	7.66
Общие Ig, г/л	19.3	19.2	19.6	18.5	25.7	30.0

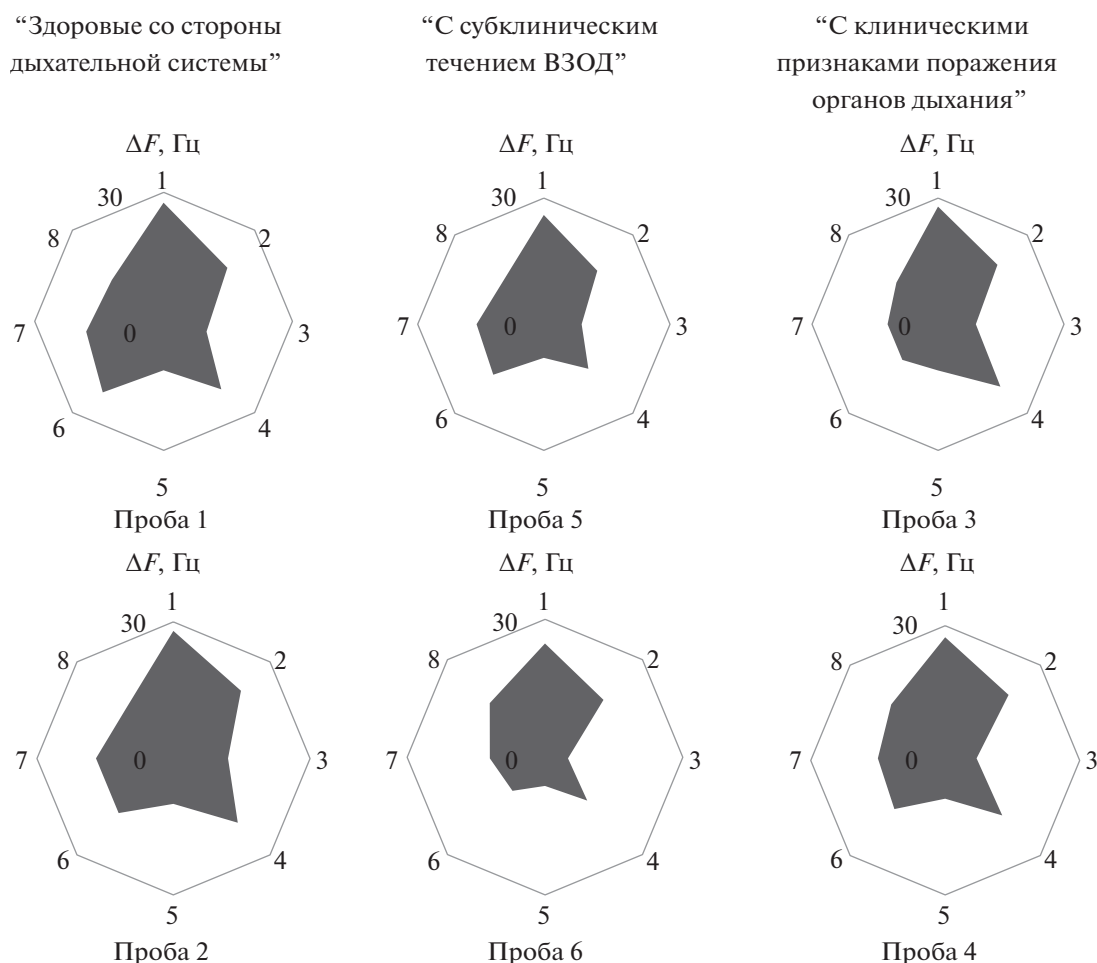
\*“—” — Отсутствуют; “+” — присутствуют.

по составу летучих соединений КВВ. Регистрируемые и расчетные параметры массива сенсоров “электронного носа” сравнивали с клинико-физиологическим статусом, установленным традиционным методом анализа. По результатам клинических и лабораторных исследований телят разделили на 3 группы: 1) “здоровые со стороны дыхательной системы” — **группа I**, 2) “с клиническими признаками поражения органов дыхания” — острый бронхит и бронхопневмония — **группа II**, 3) “с субклиническим течением ВЗОД” — субклинический бронхит и трахеобронхит — **группа III**. Результаты клинических и лабораторных исследований телят представлены в табл. 2.

Рассмотрим взаимосвязь выходных данных массива сенсоров с диагностическим статусом телят по ранее предложенному подходу “от простого к сложному”, определяемому сложностью их обработки [27].

Первичной аналитической информацией, получаемой при анализе пробы с применением массива сенсоров, являются максимальные сигналы сенсоров и “визуальные отпечатки”, построенные по ним. Известно, что форма “визуального отпечатка” определяется качественным составом летучей фракции пробы и соотношением концентраций различных классов соединений, а сравнение абсолютных сигналов сенсоров позволяет оценить долю различных веществ в пробе. На первом уровне обработки данных были получены “визуальные отпечатки” максимальных сигналов сенсоров в равновесной газовой фазе над пробами КВВ (рис. 1). Установлено, что форма “визуальных отпечатков” максимальных сиг-

налов сенсоров отличается незначительно для всех проб, однако можно выделить особенности, характерные для каждой диагностической группы. Для группы I “здоровы со стороны дыхательной системы” максимальные значения откликов характерны для сенсоров с пленками ПЭГ-2000 и ДЦГ18К6, что свидетельствует о наличии в РФФ над пробами КВВ здоровых животных паров воды и легких полярных кислородсодержащих веществ. Наибольшие значения откликов также характерны для сенсора с покрытием из МУНТ, что связано с большим содержанием легких газов в КВВ здоровых телят при интенсивном легочном обмене. В группе II “с клиническими признаками поражения органов дыхания” отмечается значительное увеличение сигналов для сенсора с пленкой ТХ-100, что указывает на увеличение в пробах общего содержания летучих веществ, особенно гетероатомных. Для этой группы при остром течении ВЗОД характерно, согласно исследованиям [15], накопление альдегидов, насыщенных углеводородов, тиолов, что отражает изменение откликов этого сенсора. При этом уменьшаются сигналы сенсоров с пленками БКС и ПДЭГС, что указывает на уменьшение содержания летучих аминов в пробах КВВ для телят с острым течением заболевания. Это указывает на явное преобладание в РФФ метаболитов патогенной микрофлоры, что доказывается присутствием в пробах по результатам микробиологических исследований энтерококков и патогенных грибов (табл. 2). Для проб КВВ от телят из группы III “с субклиническим течением ВЗОД” характерны более значительные различия в форме “визуальных отпечат-



**Рис. 1.** “Визуальные отпечатки” максимальных сигналов сенсоров в равновесной газовой фазе над пробами конденсата выдыхаемого воздуха. По кругу указаны номера сенсоров в массиве. По радиальным осям отложены сигналы сенсоров в диапазоне 0–30 Гц.

ков” максимальных сигналов сенсоров, при этом проба 5 может быть отнесена к группе условно здоровых животных, а проба 6 к группе больных. Это связано с различным состоянием телят из этой группы, при этом по результатам лабораторных испытаний проба 5 ближе к пробам из группы I, так как по клиническому осмотру у животного наблюдаются незначительные отклонения от нормы. По клиническим признакам животное, у которого отобрана проба 6, относится к группе II. А микробиологические показатели биопроб для этого животного обнаруживают умеренный рост патогенной микрофлоры. Таким образом, в группу III объединены пробы, значительно отличающиеся друг от друга по клиническому и лабораторным показателям, с возможностью самопроизвольного перехода из субклинического состояния к выздоровлению (проба 5) или острому течению ВЗОД (проба 6). Для пробы 6, помимо сигналов сенсоров с пленками ПЭГ-2000, ДЦГ18К6, значителен отклик сенсора с пленкой

Tween, что указывает на увеличение содержания в РГФ веществ с кислотными свойствами при прогрессировании заболевания [13].

Для более детальной оценки постоянства состава РГФ над пробами КВВ и соотношения в них отдельных групп соединений рассчитывали параметры сорбции по формулам (1)–(3) (второй уровень обработки данных), наиболее простым из которых является параметр эффективности сорбции  $A_{ij}^{\max}$ . Из всех возможных параметров  $A_{ij}^{\max}$  в табл. 3 представлены только те, которые позволяют дифференцировать пробы телят из группы I от проб из группы II.

Установлено, что для параметров  $A_{14}^{\max}$  наибольшие значения характерны для проб из группы III “с субклиническим течением ВЗОД” (табл. 3), что указывает на преобладание в газовой фазе над пробами КВВ полярных кислородсодержащих веществ по сравнению с полярными гетероатомными соединениями. По параметрам

**Таблица 3.** Параметры эффективности сорбции  $A_{ij}^{\max}$  ( $\pm 0.02$ ) для проб конденсата выдыхаемого воздуха

$A_{ij}^{\max}$	“Здоровые со стороны дыхательной системы”		“С клиническими признаками поражения органов дыхания”		“С субклиническим течением ВЗОД”		Идентифицируемые вещества/значение параметра $A_{ij}^{\max} \pm d$ (критерий совпадения) [9]
	1	2	3	4	5	6	
$A_{14}^{\max} (\Delta F_{\text{ПЭГ 2000}}/\Delta F_{\text{ТХ-100}})$	2.0	1.8	<b>1.6*</b>	1.9	2.4	2.8	Диэтиламин/ $1.5 \pm 0.2$
$A_{16}^{\max} (\Delta F_{\text{ПЭГ 2000}}/\Delta F_{\text{МУНТ}})$	2.0	2.3	4.0	2.5	2.2	2.3	Алифатические амины/ $0.3 \pm 0.2$
$A_{17}^{\max} (\Delta F_{\text{ПЭГ 2000}}/\Delta F_{\text{ПДЭГС}})$	1.7	1.6	2.3	1.8	1.6	2.1	Аммиак/ $0.2 \pm 0.1$
$A_{35}^{\max} \Delta F_{\text{(МО)}}/\Delta F_{\text{(БКС)}}$	1.4	1.5	0.9	1.0	1.5	1.3	—
$A_{68}^{\max} (\Delta F_{\text{МУНТ}}/\Delta F_{\text{Тween}})$	0.9	0.8	<b>0.5</b>	<b>0.6</b>	0.9	<b>0.6</b>	Этанол/ $0.6 \pm 0.1$

\* Выделены значения параметров для проб, в которых идентифицированы биомаркеры.

$A_{16}^{\max}$ ,  $A_{17}^{\max}$  у телят из группы “с клиническими признаками поражения органов дыхания” в РФ над пробами КВВ содержание спиртов, альдегидов, кетонов больше, чем легких газов и летучих аминов. Также для этой группы характерно меньшее содержание ароматических и алифатических аминов, аммиака, чем летучих органических кислот в РФ над пробами КВВ по параметрам  $A_{35}^{\max}$ ,  $A_{68}^{\max}$ . Ранее установлено, что параметры  $A_{ij}^{\max}$  при определенных условиях являются идентификационными для ЛЛС [8]. По установленным ранее идентификационным параметрам  $A_{ij}^{\max}$  [9] в РФ над пробами КВВ от телят из группы II “с клиническими признаками поражения органов дыхания” идентифицированы диэтиламин и этанол, которые являются биомаркерами наличия патогенных микроорганизмов и деструктивных процессов в тканях (табл. 1).

Выделять отдельно разные диагностические группы только по параметрам  $A_{ij}^{\max}$  ненадежно, поэтому рассчитаны параметры, отражающие особенности геометрии “визуальных отпечатков” максимальных сигналов сенсоров. Данные параметры отражают особенности взаимодействия газов и паров с тремя различными пленками сорбентов одновременно, что позволяет в зависимости от природы пленок использовать их как более специфические интегральные характеристики взаимодействия, выраженные в числовой форме. В табл. 4 представлены только те параметры  $m_{inj}$  и  $\alpha_{inj}$ , которые позволяют по их значениям выделить одну или несколько диагностических групп. Установлено, что параметры  $m_{136}$ ,  $m_{137}$  для группы телят “здоровые со стороны дыхательной систе-

мы” принимают наименьшие значения, поэтому можно предположить незначительное преобладание в РФ над пробами полярных соединений не-кислотной природы по сравнению с аминами и легкими газами. Для группы телят “с клиническими признаками поражения органов дыхания” параметр  $m_{157}$  имеет наибольшие значения, что связано со значительным преобладанием в РФ над пробами КВВ спиртов, альдегидов по сравнению с легкими летучими аминами. Увеличение содержания полярных гетероатомных соединений основной природы в РФ над пробами КВВ характеризует субклиническое течение ВЗОД, что отражается в наибольших значениях параметра  $m_{145}$  (табл. 4).

По максимальным значениям параметров  $\alpha_{134}$ ,  $\alpha_{234}$  можно выделить группу телят “здоровые со стороны дыхательной системы”. Исходя из геометрического смысла параметра  $\alpha_{inj}$ , можно предположить равное содержание в РФ над пробами КВВ полярных веществ кислотной природы и гетероатомных соединений. По минимальным значениям параметров  $\alpha_{346}$ ,  $\alpha_{347}$ ,  $\alpha_{356}$ ,  $\alpha_{357}$ ,  $\alpha_{358}$  можно выделить группу телят “с клиническими признаками поражения органов дыхания”, что указывает на преобладание в РФ над пробами КВВ тяжелых полярных гетероатомных соединений, включая ароматические амины.

Отметим, что значимое разделение всех диагностических групп возможно только по параметрам  $m_{136}$  и  $\alpha_{346}$ , так как рассчитанный критерий сравнения Крускала–Уоллиса ( $H$ ) для каждого параметра является статистически значимым ( $H = 4.571 = H_{3, 2, 0.1}$ ). Следовательно, сигналы сенсоров с пленками ПЭГ-2000, МО, ТХ-100, МУНТ характеризуются максимальной дифферен-

**Таблица 4.** Расчетные параметры особенностей формы “визуальных отпечатков”  $m$  и  $\alpha$  ( $\pm 0.02$ ) максимальных сигналов сенсоров для проб конденсата выдыхаемого воздуха

Группа телят	Номер пробы	$m_{136}$	$m_{137}$	$m_{145}$	$m_{157}$	$m_{237}$	$\alpha_{126}$	$\alpha_{134}$	$\alpha_{135}$	$\alpha_{234}$	$\alpha_{247}$	$\alpha_{346}$	$\alpha_{347}$	$\alpha_{356}$	$\alpha_{357}$	$\alpha_{358}$	$\alpha_{478}$	$\alpha_{578}$
I	1	2.26	1.84	1.97	1.83	1.20	2.36	2.60	1.86	2.77	2.95	1.91	2.12	2.80	2.71	2.74	2.07	1.47
	2	2.32	1.77	1.71	1.82	1.26	2.11	2.71	1.92	2.89	2.74	1.69	2.10	3.03	2.76	2.84	2.13	1.49
II	3	2.95	2.17	1.58	2.14	1.33	2.09	2.41	2.39	2.61	2.20	1.16	1.49	2.23	2.61	2.61	2.59	1.97
	4	2.89	2.02	1.92	2.02	1.41	2.09	2.29	2.18	2.39	2.82	1.40	1.76	2.65	2.42	2.35	2.42	1.79
III	5	2.43	1.79	2.48	1.77	1.15	2.28	2.51	1.83	2.70	2.98	2.22	2.48	2.80	2.65	2.71	1.78	1.36
	6	2.63	2.37	2.90	2.33	1.62	2.20	2.31	1.86	2.38	2.80	1.99	2.08	2.56	2.52	2.42	2.42	1.87

**Таблица 5.** Параметры подобию наборов выходных данных массива сенсоров для равновесной газовой фазы над пробами конденсата выдыхаемого воздуха

Номер пробы, группа телят	$\delta_{\Delta F} \pm 0.056$	Правильность ранжирования	$\delta_A$	Правильность ранжирования	$\delta_m$	Правильность ранжирования	$\delta_\alpha$	Правильность ранжирования
1, I – стандарт	0	–*	0	–	0	–	0	–
2, I	0.028	+ (группа I)	~0	+ (группа I)	0.015	+ (группа I)	0.004	+ (группа I)
5, III	0.032	– (группа I)	0.075	$\pm$ (группа I, III)	0.049	$\pm$ (группа I, III)	0.006	– (группа I)
4, II	0.104	– (группа III)	0.025	– (группа I)	0.129	+ (группа II)	0.036	+ (группа II)
3, II	0.118	– (группа III)	0.162	+ (группа II)	0.139	+ (группа II)	0.038	+ (группа II)
6, III	0.264	– (группа II)	0.137	– (группа II)	0.294	– (группа II)	0.013	+ (группа III)

\* “–” — неверное распределение в группу; “ $\pm$ ” — неоднозначное решение; “+” — правильное распределение в группу.

цирующей способностью при диагностике заболеваний органов дыхания у телят. Однако ранжирование проб по одному из выделенных параметров ненадежно, поэтому для разделения проб на диагностические группы по совокупности рассчитанных параметров применили параметр подобию  $\delta$  [10], который оценивает степень идентичности двух наборов переменных, характеризует в случае откликов пьезосенсоров близость химического качественного и количественного состава смесей ЛЛС. Чем меньше  $\delta$ , тем ближе по составу смеси [10].

В качестве стандартной выборки параметров для сравнения взяты данные, полученные для пробы 1, для которой все клинические и лабораторные показатели соответствуют норме, включая отсутствие внутриклеточных патогенов (вирусы, микоплазмы) (табл. 2). Рассчитаны 4 вида параметров подобию  $\delta$  для наборов данных анализируемых проб. Выбраны наборы: максимальных сигналов сенсоров  $\Delta F_{\max}$  ( $\delta_{\Delta F}$ ), параметров эффективности сорбции  $A_{ij}^{\max}$  ( $\delta_A$ ), параметров  $m_{inj}$  ( $\delta_m$ ) и  $\alpha_{inj}$  ( $\delta_\alpha$ ) (табл. 5).

Предварительно для наиболее значимо меняющейся регистрируемой величины ( $\Delta F_{\max}$ ) с учетом допустимой вариации откликов сенсоров

( $\pm 1$  Гц) рассчитали отклонение значения параметра подобию  $\Delta \delta_{\Delta F}$ , превышение которого определяет значимое различие в выборке и отнесение пробы к другой диагностической группе. Для аналитического сигнала пьезосенсоров  $\Delta \delta_{\Delta F}$  составляет  $\pm 0.056$ . С учетом этого по величинам  $\delta_{\Delta F}$  пробы 2–6 отнесены к группам I–III (табл. 5). Кроме выборки для пробы 2, ни для одной пробы не получен верный прогноз клинического состояния. Аналогично проанализированы и ранжированы пробы по наборам расчетных показателей ( $A_{ij}^{\max}$ ,  $m_{inj}$ ,  $\alpha_{inj}$ ) (табл. 5).

По величинам параметров подобию  $\delta_A$  пробы из группы I (“здоровы со стороны дыхательной системы”) не отличаются друг от друга (табл. 5); ложно к этой группе относится по этому параметру проба 4. Проба 6 также ложно отнесена к группе II, кроме того, неоднозначно принятие решения по состоянию для пробы 5. Параметр  $\delta_A$  для малой выборки не позволяет выделить все пробы с тяжелым течением ВЗОД, но он более информативен, чем  $\delta_{\Delta F}$ .

Наибольшие различия между пробами отражают параметры  $m_{inj}$ , и наибольшие значения пара-

метров подобия  $\delta_m$  характерны при расчете по их наборам (табл. 5). Прогноз состояния по набору параметров  $m_{inj}$  ложен для пробы 6, которая отнесена к группе II, тем не менее, по результатам лабораторных исследований состояние биопроб от животного 6 соответствует группе больных животных со слабо выраженными клиническими признаками. Аналогичное неустойчивое ранжирование характерно для пробы 5, наиболее близкой к пробам из группы I.

Критерии подобия, рассчитанные по параметрам  $\alpha_{inj}$  ( $\delta_a$ ) характеризуются минимальными значениями (табл. 5), однако их значения увеличиваются в соответствии с нарастанием клинических признаков заболевания. Ложным является отнесение только пробы 5 к группе I. Из всех регистрируемых клинических и лабораторных характеристик для этой пробы завышено содержание лейкоцитов в крови. Только этот параметр не позволил изначально отнести ее к группе I. С учетом этого прогноз и оценка состояния дыхательных путей телят по результатам пьезокварцевого микровзвешивания массивом из восьми сенсоров РФФ над конденсатом выдыхаемого воздуха наиболее предпочтителен по наборам параметров  $\alpha_{inj}$ ,  $m_{inj}$ .

С учетом всех параметров отсутствует ошибка при оценке состояния дыхательных путей для пробы 2 (группа I) и минимальна для пробы 3 (группа II), отобранной у теленка с ярко выраженными клиническими и лабораторными (патогенные микроорганизмы) признаками воспаления. Главным ограничением применения параметра подобия для ранжирования по качественным характеристикам состава смесей биомаркеров в РФФ над КВВ является то, что пьезосенсорами детектируются не все соединения из смеси, а лишь те, которые взаимодействуют с пленками сорбентов.

Для проверки предлагаемого подхода дополнительно проанализированы пробы КВВ от 20 телят с разным диагностическим статусом. Установлено, что по параметрам подобия  $\delta$  правильность ранжирования проб составляет 83%, а чувствительность определения наличия ВЗОД у телят – 93%.

По всем регистрируемым и расчетным параметрам оценка состояния дыхательных путей путем анализа РФФ над пробам КВВ массивом пьезосенсоров больше связана с результатами лабораторных исследований, чем с клиническими. Поскольку клинические проявления заболевания наступают позже и свидетельствуют о протекании острой фазы, при которой требуется не профилактическое, а направленное эффективное лечение, предварительная оценка состояния здоровья животных с помощью массива пьезосенсоров является более ценной.

\* \* \*

Массив неселективных химических пьезосенсоров можно применять для анализа проб КВВ малого объема без предварительной их подготовки. Установлено, что сигналы сенсоров с пленками ПЭГ-2000, МО, ТХ-100, МУНТ характеризуются максимальной дифференцирующей способностью при определении патологии органов дыхания у телят. Наибольшими диагностическими и ранжирующими свойствами характеризуются расчетные характеристики ( $\alpha_{inj}$ ,  $m_{inj}$ ) массива сенсоров. Основным преимуществом подхода являются простота работы и обслуживания массива сенсоров, возможность эксплуатации во внелабораторных условиях. Правильность и чувствительность предлагаемого подхода диагностики состояния дыхательной системы у телят составляет 83 и 93% соответственно. Для оценки надежности необходимо увеличить выборку животных с более подробным изучением их клинико-физиологического статуса для исключения заболеваний и патологических состояний других органов и систем.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 18-76-10015.*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шабунин С.В., Шахов А.Г., Черницкий А.Е., Золотарев А.И., Рецкий М.И. Респираторные болезни телят: современный взгляд на проблему // Ветеринария. 2015. № 5. С. 3.
2. Черницкий А.Е., Ефанова Л.И., Золотарев А.И., Шахов А.Г., Шабунин С.В., Рецкий М.И. Методическое пособие по прогнозированию и ранней диагностике респираторных болезней у телят. Воронеж: Издательство "Истоки", 2013. 48 с.
3. Кучменко Т.А. Химические сенсоры на основе пьезокварцевых микровесов / Проблемы аналитической химии. Т. 14 / Под ред. Власова Ю.Г. М.: Наука, 2011. С. 127.
4. Черницкий А.Е., Рецкий М.И., Золотарев А.И. Устройство для сбора конденсата выдыхаемого воздуха у животных. Патент РФ № 134772. Заявка № 2013135753/14 от 30.07.2013. Опубликовано 27.11.2013.
5. McGuirk S.M. Disease management of dairy calves and heifers // Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 2008. V. 24. № 1. P. 139.
6. Кучменко Т.А. Инновационные решения в аналитическом контроле: учеб пособие. Воронеж: Воронеж. гос. технол. акад., ООО "СенТех", 2009. 252 с.
7. Кучменко Т.А., Мишина А.А. Особенности сорбции паров аминов на тонких пленках кислотно-основных индикаторов // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 8. С. 816. (Kuchmenko T.A., Mishina A.A. Sorption specifics of volatile amines on thin films of acid-base indicators // J. Analyt. Chem. 2011. V. 66. № 8. P. 701.)
8. Кучменко Т.А., Умарханов Р.У., Гражулене С.С., Заглядова С.В., Шкинев В.М. Микроструктурные исследования сорбционных слоев масс-чувствитель-



- ных сенсоров для детектирования азотсодержащих соединений // Поверхность. Рентгеновские, синхротронные и нейтронные исследования. 2014. № 4. С. 9.
9. Кучменко Т.А., Шуба А.А., Бельских Н.В. Пример решения идентификационных задач в методе пьезокварцевого микровзвешивания смесей некоторых органических соединений // Аналитика и контроль. 2012. Т. 16. № 2. С. 151.
10. Кучменко Т.А., Шуба А.А. Информативность выходных сигналов “электронного носа” на пьезосенсорах // Аналитика и контроль. 2017. Т. 21. № 2. С. 71.
11. Иванов М.Г. Размерность и подобие. М.: Долгопрудный, 2013. 68 с.
12. Breg L., Nussbaumer-Ochsner Y., Sinues P. M-L., García-Gómez D., Suter Ya., Gaisl T., Stebler N., Gaugg M.T., Kohler M., Zenobi R. Real-time mass spectrometric identification of metabolites characteristic of chronic obstructive pulmonary disease in exhaled breath // Clin. Mass Spectrom. 2018. V. 7. № 1. P. 29.
13. Kim K.-H., Jahan S.A., Kabir E. A review of breath analysis for diagnosis of human health // Trends Anal. Chem. 2012. V. 33. № 1. P. 1.
14. Cathcart M.P., Hughes K.J. The application of exhaled breath gas and exhaled breath condensate analysis in investigation of lower respiratory tract in veterinary medicine: A review // Vet. J. 2012. V. 191. № 2. P. 282.
15. Zhou M., Liu Y., Duan Y. Breath biomarkers in diagnosis of pulmonary diseases // Clin. Chim. Acta. 2012. V. 413. № 10. P. 1770.
16. Miekisch W., Schubert J.K., Noeldge-Schomburg G.F.E. Diagnostic potential of breath analysis – focus on volatile organic compounds // Clin. Chim. Acta. 2004. V. 347. № 1. P. 25.
17. Mazzatenta A., Giulio C.D., Pokorski M. Pathologies currently identified by exhaled biomarkers // Respir. Physiol. Neurobiol. 2013. V. 187. № 2. P. 128.
18. Коренман Я.И., Попова Н.Н., Кучменко Т.А. Сенсорметрическое определение карбоновых кислот C<sub>1</sub>–C<sub>3</sub> в воздухе // Журн. прикл. химии. 2008. Т. 63. № 1. С. 94. (Korenman Ya.I., Popova N.N., Kuchmenko T.A. Determination of C<sub>1</sub>–C<sub>3</sub> carboxylic acids in air using a sensor // J. Analyt. Chem. 2008. V. 63. № 1. P. 85.)
19. Кучменко Т.А., Семенякина Н.В., Коренман Я.И. Оценка сродства некоторых сорбентов к алифатическим спиртам // Журн. прикл. химии. 1999. Т. 72. № 8. С. 1285. (Kuchmenko T.A., Semenyakina N.V., Korenman Ya.I. Estimation of the affinity of some sorbents for aliphatic alcohols by piezoelectric crystal microweighing // Russ. J. Appl. Chem. 1999. V. 72. № 8. P. 1355.)
20. Кучменко Т.А., Умарханов Р.У., Кочетова Ж.Ю., Бельских Н.В. Разработка датчика, газоанализатора и детектора аммиака на основе пьезосенсора // Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67. № 11. С. 1032. (Kuchmenko T.A., Umarkhanov R.U., Kochetova Zh.Yu., Bel'skikh N.V. Development of a piezosensor-based transducer, gas analyzer and ammonia detector // J. Analyt. Chem. 2012. V. 67. № 11. P. 930.)
21. Кучменко Т.А., Умарханов Р.У. Особенности микровзвешивания следовых содержаний алкиламинов на полимерных и твердотельных тонких пленках // Журн. аналит. химии. 2013. Т. 68. № 4. С. 397. (Kuchmenko T.A., Umarkhanov R.U. Peculiarities of microweighing of trace quantities of alkylamines on polymer and solid-state thin films // J. Analyt. Chem. 2013. V. 68. № 4. P. 368.)
22. Попова Н.Н., Коренман Я.И., Кучменко Т.А. Определение муравьиной и уксусной кислот в воздухе методом пьезокварцевого микровзвешивания // Журн. прикл. химии. 2007. Т. 80. № 6. С. 977. (Popova N.N., Korenman Ya.I., Kuchmenko T.A. Determination of formic and acetic acids in air by piezoelectric microweighing // Russ. J. Appl. Chem. 2007. V. 80. № 6. P. 955.)
23. Кучменко Т.А., Кочетова Ж.Ю., Силина Ю.Е., Коренман Я.И., Кулин Л.А., Лапицкий И.В. Определение концентраций сероводорода в потоке газа применением пьезодетектора // Журн. аналит. химии. 2007. Т. 62. № 8. С. 866. (Kuchmenko T.A., Kochetova Zh.Yu., Silina Yu.E., Korenman Ya.I., Kulin L.A., Lapitskii I.V. Determination of trace amounts of hydrogen sulfide in a gas flow using a piezoelectric detector // J. Analyt. Chem. 2007. V. 62. № 8. P. 781.)
24. Кучменко Т.А., Шуба А.А., Тюркин И.А., Битюкова В.В. Оценка состояния биологических проб по составу равновесной газовой фазы с применением мультисенсорной системы // Журн. аналит. химии. 2014. Т. 69. № 5. С. 534. (Kuchmenko T.A., Shuba A.A., Tyurkin I.A., Bityukova V.V. Estimation of the state of biological samples by the composition of the headspace using a multisensor system // J. Analyt. Chem. 2014. V. 69. № 5. P. 485.)
25. Статистические методы. Контрольные карты Шухарта: ГОСТ Р 50779.42-99. М.: Стандартинформ, 2008. 32 с.
26. Гмурман В.Е. Теория вероятностей и математическая статистика. М.: Высшая школа, 2003. 479 с.
27. Кучменко Т.А., Шуба А.А., Битюкова В.В., Матвеева Н.А. Применение массива химических сенсоров для оценки наличия новообразований по запаху крови // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 1. С. 60. (Kuchmenko T.A., Shuba A.A., Bityukova V.V., Matveeva N.A. Application of a chemical sensor array to assessing the presence of neoplasms by blood smell // J. Analyt. Chem. 2018. V. 73. № 1. P. 91.)