

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ
ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

Випуск з проблеми
«Гігієнічні проблеми застосування
пестицидів»
Підстава: Рішення Вченої ради
Національного медичного
університету імені О.О. Богомольця
Протокол № __ від _____ 2022 р.

НАПРЯМ ВПРОВАДЖЕННЯ:
ТОКСИКОЛОГІЯ

**МЕТОДИКА ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ СИНТЕТИЧНОГО БАРВНИКА
ДІАМАНТОВОГО СИНЬОГО FCF В СОРБЦІЙНОМУ МАТЕРІАЛІ МЕТОДОМ
ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ**

УСТАНОВА-РОЗРОБНИК:
Кафедра гігієни та екології № 1
Інститут гігієни та екології
Національного медичного
університету імені
О.О. Богомольця

АВТОРИ:
доц., к.мед.н. БОРИСЕНКО А.А.,
проф., д.мед.н. АНТОНЕНКО А.М.,
н.с., к.х.н. МІЛОХОВ Д.С.,
ст.н.с., к.б.н. КОРШУН О.М.,
проф., д.мед.н. ОМЕЛЬЧУК С.Т.,
член-кор. НАМН України, проф., д.мед.н.
БАРДОВ В.Г.

м. Київ

**Суть
впровадження:**

Розробка методики визначення вмісту діамантового синього FCF в сорбційному матеріалі (фільтрувальний папір) методом високоефективної рідинної хроматографії

Пропонується для впровадження в практику роботи науково-дослідних інститутів при проведенні наукових досліджень і на етапі передреєстраційних випробувань хімічних засобів захисту рослин, що вносяться за допомогою безпілотних літальних апаратів (БПЛА) та при вирішенні питання можливості їх реєстрації.

Впровадження є фрагментом ініціативно-пошукової науково-дослідної роботи «Порівняльна гігієнічна оцінка та наукове обґрунтування підходів до гігієнічної регламентації інноваційних технологій застосування пестицидів» (терміни виконання з 01.2022 р. по 12.2024 р.)

Рівень інновації. Розроблено методику визначення вмісту діамантового синього FCF в сорбційному матеріалі (фільтрувальний папір) методом високоефективної рідинної хроматографії, дозволить оцінювати ефективність та безпечність застосування різних моделей БПЛА в комбінації з різними пестицидними препаратами при використанні різних агротехнічних характеристик на етапі передреєстраційних випробувань та при проведенні наукових досліджень.

Актуальність. На сьогоднішній день застосування БПЛА в Україні з метою обробки сільськогосподарських угідь – це нова перспективна технологія, яка потребує детального вивчення та розробки підходів до оцінки ризиків і гігієнічної регламентації. Але вже зараз відомо, що дана технологія дозволяє значно знизити ризики для професійних контингентів, зменшити втрати препаратів за межі оброблюваного поля, а отже зменшити негативний вплив на населення, знизити норми витрат, що має позитивний ефект як в токсикологічному, так і економічному відношенні.

Саме тому, актуальною є розробка способу, який дозволить виміряти вміст діамантового синього FCF в сорбційному матеріалі (фільтрувальний папір). Запропонована методика дозволяє оцінювати ефективність та безпечність застосування різних моделей БПЛА в комбінації з різними пестицидними препаратами при використанні різних агротехнічних характеристик на етапі перед реєстраційних випробувань та наукових досліджень.

Раніше аналогічної методики визначення діамантового синього FCF не існувало.

Відомий спосіб визначення діамантового синього FCF, обраний в якості прототипу, в якому визначення проводять шляхом підготовки проб харчових продуктів до екстракції, проведення екстракції, очищення та кількісного вимірювання. Однак, цей спосіб не дозволяє визначати діамантовий синій FCF в сорбційному матеріалі (фільтрувальному папері).

Методика дослідження. Для розробки методу були використані наступні засоби вимірювальної техніки, допоміжне обладнання, реактиви і матеріали: бачня водяна, ваги лабораторні аналітичні Radwag® AS220.R2 з похибкою

вимірювання 0,0002 г, ваги лабораторні технічні AXIS® AD1000, випарник ротаційний, груші гумові для піпеток, камера для твердофазової екстракції, картридж Strata™ C18-e (55 μm, 70 C) 500 mg/6 ml, ф. Феноменекс, колонка хроматографічна сталева 150/4,6 Microsorb 100-5 C18, передколонка хроматографічна 4/3 Microsorb 100-5 C18, персональний комп'ютер з програмним забезпеченням для обробки хроматографічних даних „LabSolutions”, хроматограф рідинний „Шімадзу” з діодноматричним детектором, Діамантовий синій FCF, стандарт, 87,7 %, CAS RN 3844-45-9, аміак водний 25 %, ч.д.а., ацетонітрил, для рідинної хроматографії, вода бідистильована, кислота ортофосфорна, ч.д.а., кислота сірчана, х.ч., папір індикаторний Acilit® рН 0–6,0, ф. Мерк, спирт метиловий, х.ч., папір фільтрувальний лабораторний, 520 × 600 мм, 75 г/м², фільтри паперові знезолені “червона стрічка”.

Основні фізико-хімічні властивості діамантового синього FCF наведені в таблиці 1.

Таблиця 1 - Фізико-хімічні характеристики діамантового синього FCF (National library of medicines. National center for biotechnology information. Diamond blue FCF.)

| Характеристика | Значення для діамантового синього FCF |
|--------------------------------------|--|
| Хімічна назва (IUPAC) | динатрію 2-[{4-[етил(3-сульфонатобензил)аміно]феніл}{4-[етил(3-сульфонатобензил)імініо]цикло гекса-2,5-дієн-1-ілідєн}метил]бензолсульфонат |
| Структурна формула | |
| Емпірична формула | C ₃₇ H ₃₄ Na ₂ N ₂ O ₉ S ₃ |
| Молекулярна маса | 792,9 |
| Агрегатний стан, колір | кристалічний порошок синього кольору |
| Температура плавленн, °C | 283 (з розкладом) |
| Коефіцієнт розподілу н-октанол/вода, | log P = -4,9 (розрахунковий) |
| Розчинність у воді, г/л | 30 |
| Розчинність в | етанол – 3 |

| | |
|-----------------------------|--|
| органічних розчинниках, г/л | |
|-----------------------------|--|

На першому етапі дослідження було здійснено відбір проб та їх підготовку. Для аналізу брали по 2 паралельні проби.

Для проведення екстракції сорбційний матеріал (фільтрувальний папір) площею 2 дм², подрібнювали ножицями і вносили у конічну колбу місткістю 250 мл. Додавали 50 мл дистильованої води та вручну інтенсивно струшували впродовж 1 хвилини. Отриманий екстракт декантували в іншу конічну колбу місткістю 250 мл. Екстракцію повторили. Колбу з сорбційним матеріалом обмивали 10 мл дистильованої води, яку додавали до основного екстракту.

Для виконання твердофазової екстракції на картриджі Strata™ C18-е до об'єднаного екстракту, отриманого раніше, додавали (2–3) мл 1 М водного розчину сірчаної кислоти (9.2.6) до встановлення значення рН ≤ 2, контроль рН проводили за індикаторним папером. Екстракт вносили на підготований картридж Strata™ C18-е.

Картридж промивали 10 мл бідистильованої води. Розчинники, що пройшли через картридж, відкидали. Діамантовий синій FCF елюювали з шару сорбенту 3 мл 2 % (за об'ємом) розчину аміаку в метанолі. Елюат збирали у грушоподібну колбу для відгону розчинників місткістю 25 мл та випаровували на ротаційному випарнику при температурі водяної бані не вище за 40 °С до об'єму (0,2–0,3) мл. Залишок розчинника випаровували на повітрі.

Наступним етапом була підготовка проби до вводу в хроматограф. Для цього сухий залишок розчиняли в 1 мл бідистильованої води та переносили у віалу місткістю 1,5 мл. Кінцевий об'єм екстракту проби – 1 мл.

Третім етапом було проведення хроматографування, умови якого наведено нижче:

- рідинний хроматограф з діодноматричним детектором;
- колонка хроматографічна сталева 150/4,6 Microsorb 100-5 C18;
- передколонка хроматографічна сталева 4/3 Microsorb 100-5 C18;
- рухома фаза – градієнтний режим в системі двох елюентів:

елюент А – ацетонітрил;

елюент В – 0,1 % (за об'ємом) водний розчин ортофосфорної кислоти

| Час, хв | Склад рухомої фази, % за об'ємом | |
|---------|----------------------------------|----------|
| | Елюент А | Елюент В |
| 0 | 10 | 90 |
| 1,0 | 10 | 90 |
| 6,0 | 50 | 50 |
| 8,0 | 10 | 90 |
| 12,0 | 10 | 90 |

- об'ємна витрата рухомої фази – 1,0 мл/хв;
- довжина хвилі діодноматричного детектора – 620 нм;
- температура термостата колонки – 30 °С;
- об'єм інжекції – 10 мкл.

Час утримування діамантового синього FCF за даних умов – $(5,5 \pm 0,1)$ хвилини.

На заключному етапі на хроматограмах визначали та обчислювали площі піків діамантового синього FCF. Зразки, в яких пік діамантового синього FCF мав площу більшу, ніж пік діамантового синього FCF у градувальному розчині з масовою концентрацією 2,5 мкг/мл розвдили за допомогою бідистильованої води.

Використовуючи градувальну залежність, результати вимірювань і обчислень середнього значення площі хроматографічних піків діамантового синього FCF в пробах, розраховували вміст (ρ_n), мкг/дм², діамантового синього FCF для кожної з паралельних проб за формулою:

$$\rho_n = \frac{\bar{S}_n - a}{b} \cdot \frac{V_{np}}{S}, \quad (2)$$

де n – номер паралельної проби ($n = 1, 2$);

\bar{S}_n – середнє значення площі піка діамантового синього FCF, ум. од.;

a, b – коефіцієнти регресії;

V_{np} – кінцевий об'єм екстракту проби, мл;

S – площа проби сорбційного матеріалу (фільтрувальний папір), дм².

Результат обчислень заокруглюють до другої значущої цифри.

Етапи методики визначення вмісту діамантового синього FCF в сорбційному матеріалі (фільтрувальний папір) методом високоефективної рідинної хроматографії наведено на рис. 1.



Рис. 1. - Спосіб визначення вмісту діамантового синього FCF в сорбційному матеріалі (фільтрувальний папір)

Висновок. Отже, встановлені оптимальні умови аналітичного визначення діамантового синього FCF в сорбційному матеріалі (фільтрувальний папір).

Розроблений спосіб дозволяє вимірювати вміст діамантового синього FCF в сорбційному матеріалі (фільтрувальний папір) в діапазоні від 0,125 до 1,25 мкг/дм² методом обернено-фазової високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з спектрофотометричним (СФ) детектуванням.

Запропонований спосіб вмісту діамантового синього FCF в сорбційному матеріалі (фільтрувальний папір) дозволить оцінювати ефективність та безпечність застосування різних моделей БПЛА в комбінації з різними пестицидними препаратами при використанні різних агротехнічних характеристик на етапі перед реєстраційних випробувань та наукових досліджень.

За шкалою градації доказів і сили рекомендацій даний інформаційний лист відноситься до 4 D рівня доведеності первинних даних.

За додатковою інформацією звертатися до авторів листа:

Кафедра гігієни та екології № 1, Інститут гігієни та екології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця,
доцент, к.мед.н. Борисенко Андрій Анатолійович
тел. (044)-454 49 42.