

НАО «Медицинский университет Астана»

УДК: 615.2: 615-099: 611.08

МПК: G01N33/15, G01N33/48, G01N33/49

Сулейменова Гаухар Муратовна

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОГО И
КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕЛЬТАМЕТРИНА,
ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ БИОМАТЕРИАЛА**

7М10104 – «Фармация»

Диссертация
на соискание академической степени
магистра медицинских наук

Научный руководитель:
д.фарм.н., профессор Шукирбекова А.Б.

Астана 2024 год

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ.....	5
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	7
СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ	8
ВВЕДЕНИЕ	10
1.1 КЛАССИФИКАЦИЯ И ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЛЬТАМЕТРИНА (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)	14
1.2 Классификация и общая характеристика пестицидов	14
1.3 Общая характеристика дельтаметрина	18
1.4 Токсикологическая характеристика дельтаметрина, клиническая картина.....	20
1.5 Методы анализа, применяемые в химико-токсикологическом анализе синтетических пиретроидов	21
2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	27
2.1 Объекты исследования	27
2.2 Методы исследования.....	27
2.2.1 Химические методы исследования.....	27
2.2.2 Хроматографические методы.....	28
2.2.2.1 Тонкослойная хроматография	28
2.2.3 Спектрофотометрические методы анализа	30
2.2.3.1 Метод УФ-спектрофотометрии	30
2.2.4 Методы изолирования органических веществ из объектов биологического происхождения.....	31
3. МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ДЕЛЬТАМЕТРИНА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ)	33
3.1 Химические методы идентификации	33
3.1.1 Цветные реакции	33
3.1.2 Осадительные реакции.....	34
3.1.3 Реакции на функциональные группы	35
3.2 Физико-химические методы обнаружения дельтаметрина.....	36
3.2.1 Метод тонкослойной хроматографии (ТСХ)	36

3.2.2 Метод УФ- спектрофотометрии	38
4. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕЛЬТАМЕТРИНА.....	43
4.1 Метод УФ – спектрофотометрии	43
5. ИССЛЕДОВАНИЕ УСЛОВИЙ ЭКСТРАКЦИИ ДЕЛЬТАМЕТРИНА ..	46
5.1 Экстракция дельтаметрина органическими растворителями	46
6. ВЫДЕЛЕНИЕ ДЕЛЬТАМЕТРИНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА.....	48
6.1 Выделение дельтаметрина из объектов биологического происхождения с помощью классических методов изолирования	48
6.1.1 Выделение дельтаметрина по методу Стаса-Отто.....	48
6.1.2 Выделение дельтаметрина по методу А.А. Васильевой.....	49
6.1.3 Выделение дельтаметрина по методу В.П. Крамаренко	50
6.2 Выделение дельтаметрина по методу В.К. Шорманова, Е.Н. Чигаревой и О. В. Белоусовой	51
6.3 Обнаружение дельтаметрина в вытяжках из биологического материала .	51
6.4 Количественное определение дельтаметрина в вытяжках из биологического материала.....	53
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	55
ВЫВОДЫ.....	56
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	57
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	58
Приложение 1	64
Приложение 2	65

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

1. Кодекс Республики Казахстан от 7 июля 2020 года № 360-VI «О здоровье народа и системе здравоохранения» (с изменениями и дополнениями по состоянию на 11.02.2024 г.)
2. Закон Республики Казахстан от 10 февраля 2017 года № 44-VI «О судебной-экспертной деятельности» (с изменениями по состоянию на 03.09.2023 г.)
3. Закон Республики Казахстан от 3 июля 2002 года N 331 «О защите растений»

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяют следующие термины с соответствующими определениями:

Ацетилхолин - нейромедиатор, который играет ключевую роль в передаче сигналов между нервами и мышцами, а также является главным веществом в парасимпатической нервной системе.

Биопрепараты - препараты, в которых активные вещества производятся в живых системах, а затем извлекаются из них с помощью разнообразных биотехнологических методов.

Вирус Зика – инфекционное заболевание, передающееся при укусах комаров рода *Aedes*.

Высокоэффективная жидкостная хроматография - метод физико-химического анализа, основанный на разделении компонентов между двумя несмешивающимися фазами. В данном методе одна из фаз остается неподвижной, в то время как другая фаза подвижна (элюент).

ГАМК-рецепторы - белковые структуры на поверхности нервных клеток, способные связываться с нейромедиатором гамма-аминомасляной кислотой.

Газо-жидкостная хроматография - метод физико-химического анализа, в котором разделение веществ основано на том, что компоненты анализируемой смеси распределяются между двумя несмешивающимися фазами. В этом случае газ (газ-носитель) является подвижной фазой, в то время как твердый сорбент или жидкость, нанесенная на инертный твердый носитель, действует как неподвижная фаза.

Изолирование - процесс перемещения важных с токсикологической точки зрения веществ из исходных объектов в жидкую фазу (вытяжку, минерализат или дистиллят).

Качественный анализ – совокупность различных химических, физических и физико-химических подходов, применяемых для обнаружения соединений, присутствующих в составе анализируемого вещества или смеси веществ.

Количественный анализ - совокупность физических, физико-химических и химических методов, используемых для определения количества элементов (ионов), радикалов, функциональных групп, соединений или фаз в изучаемом объекте.

Молярия - инфекционное заболевание, возбудителем которого являются комары рода *Plasmodium*.

Пестициды – химические или биологические вещества, применяемые для борьбы с вредными организмами.

Спектрофотометрия - метод исследования, основанный на способности химических соединений и отдельных атомов реагировать с электромагнитными волнами в различных областях спектра, включая ультрафиолетовую, видимую и инфракрасную области.

Средства защиты растений – пестициды, биоагенты, а также технические и другие средства, применяемые в целях защиты растений.

Токсикант - вещества или соединения, способные нанести вред живым организмам, вызвать отравление, интоксикацию, патологические состояния и даже смерть

Тонкослойная хроматография – хроматографический метод, при котором компоненты разделяются при прохождении подвижной фазы через тонкий слой сорбента, нанесенный на пластину или подложку.

Химико-токсикологический анализ - совокупность научно-обоснованных методов, используемых для выявления и количественного определения наркотических и токсических веществ, а также их метаболитов в образцах биологического материала.

Экстрагент - вещества, которые могут извлекать определенные компоненты из твердых материалов или жидких смесей с селективностью.

Экстракция - перевод исследуемых веществ из водной фазы в фазу органического растворителя.

Элюент - газы или жидкости, используемые в качестве подвижной фазы в хроматографической системе.

Ядохимикат - средства органического или неорганического происхождения, применяемые для контроля над сорняками, насекомыми и грызунами.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

А - оптическая плотность

АХ - ацетилхолин

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография

ГАМК - гамма-амино-масляная кислота

ГЖХ - газо-жидкостная хроматография

ГФ - Государственная фармакопея

ДДТ – дихлордифенил трихлорметилметан

ИК -спектр- инфракрасный спектр

ЛС- лекарственное средство

НД - нормативный документ

СД- смертельная доза

ТСХ - тонкослойная хроматография

УФ - ультрафиолет

УФ-спектр – ультрафиолетовый спектр

ХТА - химико-токсикологический анализ

СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ

Таблица 1 Зарегистрированные пестициды в Республике Казахстан	14
Таблица 2 Классификация пестицидов, основанная на функции пестицида и уничтожаемом им вредном организме	16
Таблица 3 Торговые наименования дельтаметрина	19
Таблица 4 - Определение и пределы чувствительности цветных реакций дельтаметрина с некоторыми реактивами	33
Таблица 5 - Определение и пределы чувствительности осадительных реакций дельтаметрина с некоторыми реактивами	34
Таблица 6 - Определение и пределы чувствительности функциональных реакций дельтаметрина с некоторыми реактивами	35
Таблица 7- Значения Rf дельтаметрина полученные	37
Таблица 8 - Данные, полученные в результате детектирования дельтаметрина детекторами, применяемые в ХТА.....	37
Таблица 9 - Зависимость оптической плотности раствора дельтаметрина от применяемых растворителей	41
Таблица 10 - Спектральные характеристики дельтаметрина в различных растворителях	42
Таблица 11 - Результаты статистической обработки величины удельного и молярного коэффициентов светопоглощения	43
Таблица 12 - Результаты спектрофотометрического	45
Таблица 13 - Результаты обнаружения дельтаметрина, выделенного из биологического материала при помощи осадительных реакций и реакций на функциональные группы	52
Таблица 14 - Результаты выделения дельтаметрина из биологического материала (модельные смеси печени) спектрофотометрическим методом и их метрологические характеристики (среднее значение 5 измерений)	53

Рисунок 1 Классификация инсектицидов	17
Рисунок 2 - Схема детектирования дельтаметрина	38
Рисунок 3 - УФ-спектр раствора дельтаметрина (0,025 мг/мл)	39
Рисунок 4 - УФ-спектр раствора дельтаметрина (0,025 мг/мл)	40
Рисунок 5 - УФ-спектр раствора дельтаметрина (0,025 мг/мл)	40
Рисунок 6 - Калибровочный график определения раствора дельтаметрина в этаноле	44

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Изучение токсичности пестицидов играет важную роль в обеспечении безопасности населения. Широкое использование пестицидов привлекает пристальное внимание по причине загрязнения его остатками кормов и продуктов питания, а это, в свою очередь, представляет опасность для здоровья человека [1].

Особое место среди применяемых пестицидов занимают синтетические пиретроиды, наиболее распространенным из которых является дельтаметрин [2]. Препараты на основе дельтаметрина характеризуются относительной дешевизной, небольшими нормами расхода, простотой применения и высокой эффективностью, в связи с чем широко используются в качестве инсектоакарицидов [3].

В организм человека дельтаметрин может поступить через дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт, неповрежденную кожу. Он поражает центральную и периферическую нервную систему. Токсическое действие дельтаметрина выражается головной болью, головокружением, болью в суставах, тошнотой, рвотой. Затем проявляется нейротоксическое действие, тремор, судороги, параличи, мышечная слабость, глубокая депрессия. Смертельные случаи отравления дельтаметрином проявляются в виде инфаркта, отека мозга и поражения печени [4,5].

На сегодняшний день недостаточно данных по идентификации и количественному определению дельтаметрина. Широкое применение дельтаметрина, его высокая токсичность, наличие случаев летального отравления обуславливает необходимость изучения этого соединения в химико-токсикологическом отношении.

Цель исследования: Разработка методик качественного и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биологического материала.

Задачи исследования:

1. Разработать чувствительные методики идентификации дельтаметрина с помощью химических и физико - химических методов исследования.
2. Разработать методики количественного определения дельтаметрина с помощью физико - химических методов исследования.
3. Изучить наиболее оптимальные условия изолирования дельтаметрина.
4. Оценить пригодность и достоверность разработанных методик качественного и количественного анализа дельтаметрина, выделенного из биологического материала.

Объект и предмет исследования:

1. Концентрат эмульсия «Дельцид» (действующее вещество дельтаметрин) фирмы «АГРОВЕТЗАЩИТА» (Россия).
2. Модельная смесь, состоящая из исследуемого вещества и трупной печени животного происхождения.

Методы исследования:

1. Химические (цветные и осадительные реакции) и физико - химические методы (ТСХ, спектрофотометрия) идентификации дельтаметрина, выделенного из биоматериала.
2. Количественные методы определения дельтаметрина (ТСХ, спектрофотометрия).
3. Методы изолирования дельтаметрина из биологического материала.

Научная новизна исследования: Впервые разработаны методики качественного и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биоматериала для химико-токсикологических исследований.

1. Впервые разработаны методики качественного и количественного определения дельтаметрина с помощью химических и физико-химических методов.
2. Впервые изучены оптимальные условия для экстракции дельтаметрина.
3. Оценена пригодность разработанных методик обнаружения и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биоматериала.

Практическая значимость. На основе проведенного исследования дельтаметрина, выделенного из биологического материала, разработаны методические рекомендации. В методические рекомендации включены теоретические основы качественного и количественного определения дельтаметрина с помощью химических и физико-химических методов анализа.

Разработанные учебно-методические рекомендации по дисциплине «Токсикологическая химия» внедрены в учебный процесс для самостоятельной работы студентов фармацевтического факультета НАО «Медицинский Университет Астана» и КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы.

База проведения исследования:

Кафедра фармацевтических дисциплин НАО «Медицинский университет Астана»

Основные положения, выносимые на защиту:

- Методики качественного анализа дельтаметрина, пригодные для целей химико-токсикологического анализа.

- Методики количественного анализа дельтаметрина, выделенного из биоматериала.
- Оптимальные условия экстракции дельтаметрина.
- Оценка пригодности разработанных методик обнаружения и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биологического материала с помощью общеизвестных методов изолирования.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из перечня обозначений и сокращений, списка таблиц и рисунков, нормативных ссылок, введения, 6 глав, заключения, выводов, списка литературы, приложения.

Работа изложена на 65 страницах машинописного текста, включает 14 таблиц, 6 рисунков и 2 страниц приложения. Список использованной литературы содержит 87 наименований, в том числе иностранной литературы.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи, отмечена новизна, практическая значимость исследования и основные положения, выносимые на защиту.

В 1 разделе диссертационной работы изложен аналитический обзор отечественной и иностранной литературы, в котором рассмотрены классификация и общая характеристика синтетических пиретроидов, характеристика дельтаметрина, его применение, методы, применяемые в химико-токсикологическом исследовании синтетических пиретроидов, а также методы изолирования из биоматериала синтетических пиретроидов.

Во 2 разделе рассмотрены используемые объекты и методы применяемые для обработки информации и данных полученных в результате выполнения диссертационной работы. Описаны химические, хроматографические и спектрофотометрические методы исследования, а также методы изолирования из объектов биологического происхождения.

В 3 разделе представлена экспериментальная часть работы, результаты собственных исследований, полученных в ходе проведения идентификации дельтаметрина химическими методами (цветные и осадительные реакции, реакции на функциональные группы), физико-химическими методами (ТСХ, УФ - спектрофотометрия).

В 4 разделе приведены результаты экспериментальной части исследования, данные полученные в ходе проведения количественного анализа дельтаметрина методом УФ - спектрофотометрии.

В 5 разделе представлены результаты изучения наиболее оптимальных условий экстракции дельтаметрина органическими растворителями.

В 6 разделе диссертационной работы отражены результаты данных полученных при выделении дельтаметрина из биологического материала при помощи общепринятых методов Стаса-Отто, А.А. Васильевой, В.П. Крамаренко.

В заключении сформулированы основные результаты проведенных исследований.

Апробация работы. Основные положения опубликованы и представлены на:

- Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации», Южно-Казахстанская медицинская академия совместно с Таджикским государственным медицинским университетом им. Абуали Ибн Сино и с Фондом Нурсултана Назарбаева, Шымкент 2022 год. «Дельтаметрин как объект химико-токсикологического исследования». Публикация тезиса и выступление с устным докладом.

- В сборнике материалов Биковинского международного медико-фармацевтического конгресса молодых ученых, 2023 год. «Research of deltamethrin in chemical and toxicological terms». Публикация тезиса.

- Международной научно-практической конференции "Абу Али Ибн Сино и инновации в современной фармацевтике", Ташкентский фармацевтический институт, 2023 год. «Химические методы идентификации дельтаметрина, выделенного из биологического материала. Публикация тезиса и выступление с устным докладом.

- Международной научно-практической конференции «Современная фармация: новые подходы в образовании и актуальные исследования», Медицинский университет Астана, Астана 2023 год. «Физико-химические методы определения дельтаметрина». Публикация экспериментальной статьи.

- Выступила с устным докладом на I Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной Дню клинической фармакологии, Саратовский ГМУ имени В.И. Разумовского, 2024 год (диплом 2 степени).

- Международной научной конференции «Информационные технологии и аналитика в медицине и медицинском образовании: инновации и перспективы», Медицинский университет Астана, 2024 год. «Использование УФ - спектрофотометрии для качественного и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биоматериала». Публикация тезиса и выступление с устным докладом.

1.1 КЛАССИФИКАЦИЯ И ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЛЬТАМЕТРИНА (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)

1.2 Классификация и общая характеристика пестицидов

В настоящее время на территории Республики Казахстан, в соответствии с законом «О защите растений», зарегистрировано около 1036 торговых наименований пестицидов [6].

В Казахстане эксплуатация пестицидов осуществляется на основе Приказа Министра сельского хозяйства от 29 июня 2023 года №32940 «Об утверждении технического регламента о безопасности средств защиты растений (пестицидов)». В данном приказе внесены нормативные акты, регулирующие использование пестицидов и контролирующие их оборот. Также помимо регистрации, пестициды, как и лекарственные средства, должны проходить процесс сертификации, чтобы быть разрешенными к использованию на территории страны. Органы государственного контроля и надзора занимаются мониторингом и оценкой безопасности применения пестицидов на территории Республики [7].

Таблица 1 Зарегистрированные пестициды в Республике Казахстан

№	Группа	Количество зарегистрированных пестицидов
1	Гербициды	525
2	Инсектициды и акарициды	174
3	Фунгициды	127
4	Вещества для предпосевной обработки семян	100
5	Дефолианты	27
6	Регуляторы роста растений	24
7	Биопрепараты	19
8	Вещества против вредителей запасов в складских помещениях	18
9	Вещества против вредителей хлебопродуктов	15
10	Родентициды	3
11	Нематициды	2
Всего		1034

К наиболее часто используемым пестицидам относятся инсектициды, гербициды, фунгициды и родентициды. К другим менее известным пестицидам относятся регуляторы роста, дефолианты растений, средства для дезинфекции поверхностей [7].

Пестициды играют значимую роль в промышленном хозяйстве Казахстана, как и во многих других странах, защищая растения от вредителей и болезней, а также повышая урожайность [8].

К сожалению, помимо положительных влияний, пестициды оказывают негативное воздействие на здоровье населения. Согласно недавнему исследованию, опубликованному в журнале *Public Health*, 385 миллионов человек ежегодно переносят острые отравления пестицидами, включая около 11 тысяч смертельных исходов [9].

В настоящее время пестициды занимают ведущие позиции среди источников загрязнения окружающей среды и продуктов питания. Эти химические соединения, активно вводимые в окружающую среду и циркулирующие в ней, представляют серьезную угрозу для здоровья людей и экосистем, если не соблюдаются соответствующие меры безопасности [10]. Отечественные исследователи отмечают негативные последствия химических средств защиты растений на состояние здоровья граждан за счет иммунных нарушений, роста числа аллергических заболеваний, болезней эндокринной и пищеварительной систем. Это может быть связано по многим причинам, например, использование того или иного пестицида не по назначению, а также в неправильных дозах [8].

Пестициды – это разнообразные биологических и химических вещества, используемые для контроля, уничтожения или предотвращения размножения вредителей. Вредителями могут быть насекомые, сорняки, моллюски, птицы, млекопитающие, рыбы, нематоды (круглые черви), микробы и другие [11].

Ядохимикаты целесообразно классифицировать на основе их свойств и изучать по соответствующим группам, так как они отличаются по своим физическим и химическим свойствам.

На сегодня существует три наиболее популярных метода классификации пестицидов.

- 1) Классификация, основанная на химическом составе пестицида.
- 2) Классификация, основанная на способе поступления.
- 3) Классификация, основанная на функции пестицида и уничтожаемом им вредном организме [12].

На основе их химического строения и типа активных химических веществ пестициды классифицируются наиболее чаще. Такая классификация предоставляет информацию о химическом составе, физических характеристиках и эффективности различных пестицидов. Зачастую вещества схожие по химической структуре имеют схожий спектр применения.

Ядохимикаты классифицируются по содержанию химических веществ на четыре основные группы, а точнее: фосфорорганические соединения (диазинон, хлорпирифос), хлорорганические соединения (дихлордифенил трихлорметилметан, олдрин), производные бензойных кислот (дикамба), карбаматы (карбарил и алдикарб), производные феноксиуксусной кислоты

(2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота), пиретрин и пиретроиды (дельтаметрин, циперметрин) [13].

Помимо этого, приведенные выше пестициды классифицируются по способу получения того или иного ядохимиката. Таким образом, они бывают синтетические и природные.

Синтетические пестициды - это химические вещества, созданные человеком, они не встречаются в природе в чистом виде. Природные пестициды представляют собой вещества, синтезируемые растениями в естественных условиях и применяемые для борьбы с вредными организмами в сельском хозяйстве и других сферах [14].

Пестициды по способу поступления в организм делятся на системного, несистемного (контактного), кишечного действия и репелленты. Системные пестициды - это пестициды, которые поглощаются самими растениями или животными и транспортируются в необработанные ткани. Несистемные пестициды также именуется контактными пестицидами, поскольку они оказывают воздействие на вредителей-мишеней при контакте с ними [15]. Пестициды кишечного действия вызывают гибель вредных насекомых при попадании в кишечник. Репелленты достаточно неприятны на вкус, тем самым отпугивают вредителей от обработанных растений или участков. Репелленты не обладают смертельным свойством [13].

В таблице 2 представлена классификация пестицидов, основанная на функции ядохимиката и уничтожаемом им вредном организме.

Таблица 2 Классификация пестицидов, основанная на функции пестицида и уничтожаемом им вредном организме

Группа	Тип вредителя
Инсектициды	Уничтожают насекомых
Акарициды	Уничтожают клещей
Ларвициды	Личинки, комары
Гербициды	Уничтожают сорняки
Зооциды	Уничтожают вредных теплокровных животных
Родентициды	Борются с мышами и другими грызунами
Фунгициды	Уничтожают патогенные грибы
Бактерициды	Убивают бактерии или действует против бактерий
Вирусциды	Действует против вирусов
Моллюскоциды	Подавляют или убивают моллюсков, т.е. улиток, которые обычно нарушают рост растений или сельскохозяйственных культур.
Нематоциды	Уничтожают нематод, которые являются паразитами растений
Антисептики	Для защиты древесины от гниения
Авициды	Убивают птиц

Инсектициды являются важными пестицидами, которые можно разделить на несколько подклассов. Ниже, на рисунке 1, приведена подклассификация инсектицидов [11].

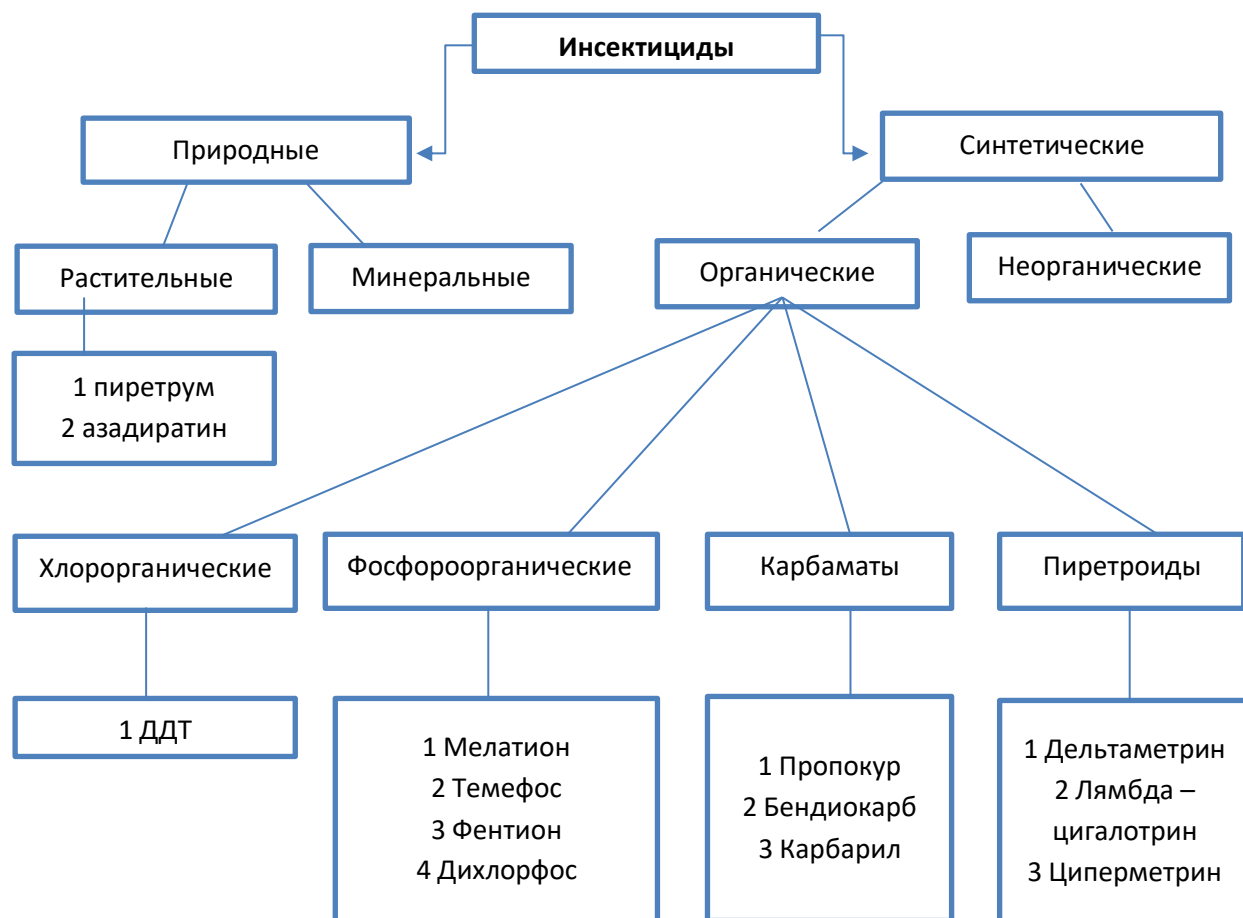


Рисунок 1 Классификация инсектицидов

Особое место среди применяемых инсектицидов занимают синтетические пиретроиды: аллетрин, ресметрин, фенотрин, сумитрин, а также циперметрин, дельтаметрин и перметрин [16].

Синтетические пиретроидные пестициды представляют собой органическую группу пестицидов, синтезируемых путем модификации структуры природных пиретринов. Они обладают большей стабильностью и длительным остаточным эффектом [17].

По химической структуре синтетические пиретроиды представляют собой сложные эфиры кислот, таких как хризантемовая кислота, галогензамещенная хризантемовая кислота, 2-(4-хлорфенил)-3-метилмасляная кислота, перметриновой, изовалериановой, циклопропанкарбоновой, а также спирта (например, аллетролон, 3-феноксibenзиловый спирт) [18].

Самый первый пиретроид был синтезирован в 1949 году, и получил название аллетрин. После аллетрина было синтезировано много пиретроидов,

но сегодня лишь немногие выпускаются в промышленных масштабах. В настоящее время на рынке пестицидов, ведут лидирующие позиции именно пиретроиды.

Пиретроиды делятся на 3 поколения: первого поколения (неопинамин (тетраметрин), ресметрин, аллетрин и др.), второго поколения (дельтаметрин, циперметрин, перметрин и др.) и третьего поколения (флукитринат, флувалинат, цигалотрин и др.).

Недостатками пиретроидов первого поколения является – слабая фотостабильность. Помимо этого, они имеют непродолжительный эффект на обработанных поверхностях, по сравнению с другими поколениями. Однако, если сравнивать их с пиретринами, то инсектицидная активность синтетических сохраняется в 10-20 раз выше, чем у предыдущих [16].

Пиретроиды второго поколения имеют длительный эффект после обработки. Инсектицидная эффективность пиретроидов второго поколения превосходит фосфорорганические соединения и карбаматы на несколько порядков [15].

К пиретроидам третьего поколения относятся цигалотрин, флукитринат, тралометрин, цифлутрин, флувалинат, фенпропатрин, бифетрин. Также с данную группу входит этофенпрокс, который, в отличие от других пиретроидов, не содержит сложноэфирной группы, имеет краткосрочный эффект [11].

Синтетические пиретроиды относятся к группе нейротропных ядов в своем воздействии на членистоногих, особенно выраженном при низких температурах [17]. Они вызывают блокаду передачи нервных сигналов, паралич организма и смерть, подавляя проницаемость калия и натрия в синапсах при контакте. Другая причина летального исхода заключается в ингибировании активности ферментов, таких как монооксигеназы [19].

Токсичность различных представителей группы пиретроидов варьируется. В ней присутствуют как соединения с низкой токсичностью, такие как неопинамин и перметрин, так и высокотоксичные, например, дельтаметрин и цигалотрин. Некоторые из них обладают раздражающими свойствами, такими как дельтаметрин, фенвалерат и перметрин [20].

1.3 Общая характеристика дельтаметрина

Дельтаметрин – это синтетический пиретроид второго поколения. Химическая формула ((8)-альфа-циано-3-феноксibenзил-(1К, цис)-3-(2,2-дибромвинил)-2,2-диметилциклопропанкарбоксилат). Брутто-формула $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$.

Впервые дельтаметрин был синтезирован в 1974 году, в 1977 году поступил в продажу в США [10].

Торговые наименования на территории Республики Казахстан торговые название приведены в таблице ниже:

Таблица 3 Торговые наименования дельтаметрина

№	Название препарата	Фирма производитель	Страна производитель
1	Дельтанол	ПП "O.L.KAR.-АГРОЗООВЕТ-СЕРВИС"	Украина
2	Дельцид	ООО «НВЦ АГРОВЕТЗАЩИТА»	Россия
3	Дельта Стар	Байер КропСайенс АГ	Германия
4	Децис Эксперт	Байер КропСайенс АГ	Германия
5	Дезимин	DVA Agro GmbH	Казахстан
6	Флекс Эксперт	ТОО "Астана-Нан"	Казахстан

Дельтаметрин обладает характеристиками инсектицида, акарицида и ларвицида [21]. Механизм действия дельтаметрина на вредителей основано на его воздействии на центральную и периферическую нервную систему через аксоны, взаимодействуя с натриевыми каналами млекопитающих или насекомых, в результате выделяется излишний ацетилхолин (АХ) [22].

Дельтаметрин содержит цианогруппы, поэтому при взаимодействии с ГАМК-рецепторами мозга он способен вызвать функциональные нарушения в работе спинальных промежуточных нейронов и экстрапирамидной системы [23].

Это вещество, так же, как и другие синтетические пиретроиды, эффективно борется с различными видами насекомых, включая жесткокрылых, чешуекрылых, равнокрылых, двукрылых, прямокрылых и бахромчатокрылых, которые являются часто встречаемыми вредителями в сельском хозяйстве. Также оно эффективно против ихневмонид, коровок, златоглазок и хищных клещей, которые обычно считаются полезными насекомыми [24,25].

Дельтаметрин широко используется в аграрной промышленности для защиты сельскохозяйственных культур: фруктов, овощей, рыбы и от вредителей и паразитов в наземном животноводстве [26].

Также он обеспечивает контроль над переносчиками заболеваний человека, такими как виды комаров, которые переносят вирус Зика и вирус денге, особенно в Индии и других развивающихся странах, в соответствии с данными Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [27].

Ко всему этому дельтаметрин использовался для борьбы с переносчиками малярии. Для этого противомоскитные сетки пропитывали данным пестицидом в целях профилактики малярии в странах Центральной Америки. Этот метод оказался эффективным, что привело к снижению смертности от малярии, в частности, неонатальных и младенческих смертностей [28].

Также дельтаметрин активно используется в ветеринарии. Основная польза этих соединений проявляется в их репеллентном эффекте. Их высокая устойчивость на шерсти или коже, но не в тканях, делает их особенно ценными в борьбе с паразитами, которые обитают на поверхности кожи, такими как клещи, вши и мухи [29].

1.4 Токсикологическая характеристика дельтаметрина, клиническая картина

Дельтаметрин является нейротоксиком. В первую очередь он поражает нервную систему, действуя на сенсорные и двигательные нервы [30].

Дельтаметрин считается высокотоксичным пестицидом. Для человека и теплокровных животных смертельная доза (СД) - 50 для крыс 128-138 мг/кг [21].

Чаще всего инсектициды попадают в организмы людей через дыхательные пути - это самый опасный вид отравления дельтаметрином [31]. В легких происходит наиболее быстрое всасывание в кровь. Поэтому действие дельтаметрина, поступившего через дыхательные пути, выражено намного сильнее, чем при поступлении через слизистую желудка. Это связано с тем, что яд, проходя через легкие, минует печеночный барьер [32].

Профессиональные отравления считаются частой причиной интоксикаций дельтаметрином. Было зарегистрировано несколько случаев, приведших к отравлению, без летального исхода из-за неправильного соблюдения мер предосторожности [33]. Дельтаметрин может вызывать кожную сыпь у работников, подвергшихся воздействию дельтаметрина. Также частыми симптомами являются – онемение и жжение кожи [34].

При отравлении дельтаметрином появляется тремор, повышенная возбудимость, слюнотечение и параличи [31, 35].

Помимо этого, симптомами отравления является тошнота, рвота, спазмы в желудке, головная боль, головокружение. В тяжёлых случаях появляются судороги, одышка с влажными хрипами, потеря сознания. Одышка в данном случае свидетельствует о развитии отека легких [36].

В основном, контакт населения с дельтаметрином происходит через пищевые продукты, обработанные пестицидом. Скорость всасывания в данном случае будет зависеть от формы дельтаметрина [37].

Дети могут быть подвержены пестицидам не только через кожу, воздух или продукты питания, но и из-за своей привычки пробовать все на вкус. Они часто играют на полу или земле, недостаточно следят за личной гигиеной, что увеличивает риск загрязнения [38].

Одной из причин отравления может случиться попросту незнание используемого вещества. Так, в Казахстане было отмечено несколько летальных случаев отравления инсектицидами при обработке помещений [39, 40]. Также летальные случаи отмечены при использовании инсектицидов как противопедикулезное средство у детей [41].

Нередко, причиной отравления является суицидальное применение вещества. Были описаны два случая интоксикации эмульсией дельтаметрина при этом медицинская помощь предотвратила летальный исход [42].

В одной из изученных статей рассказывалось об антидотах при отравлении дельтаметрином. Исследования проводили на крысах. В результате исследования выяснилось, что среди следующих антидотов (атропин, феназепам, диазепам, фенобарбитал, АЛ-5, АЛ-7, аминазин) высокую адсорбирующую способность оказал АЛ-5. При использовании данного антидота выживаемость крыс составляла 80% [43].

1.5 Методы анализа, применяемые в химико-токсикологическом анализе синтетических пиретроидов

Методы качественного и количественного анализа описаны в ряде научных источников, посвящённых определению пиретроидов с целью изучения их химической токсичности.

В связи с недостаточностью литературных данных, относительно методов качественного и количественного исследования дельтаметрина, нами учитывались имеющиеся в литературе сведения об идентификации и количественном определении синтетических пиретроидов.

Тонкослойная хроматография

Для анализа пиретроидов методом тонкослойной хроматографии автором [21] предложены системы гексан – ацетон (4:1) или хлороформ – метанол – 25% раствор аммиака (32:7:1). Разделение проводили на пластинках «Сорбфил», пластинки со слоем силикагеля или оксида алюминия. В качестве детектора использовали реактивы 0,3% раствор перманганата калия (светло-желтые пятна), нитрата серебра (серо-черные пятна). Также при обработке пластинки «Сорбфил» фосфорномолибденовой кислотой и этиловым спиртом пиретроиды образуют желтые пятна, а реактивом Драгендорфа – оранжевые.

При определении подлинности дельтаметрина авторами [44,45] рекомендованы следующие условия хроматографического разделения: пластины «Сорбфил», «Силуфол» или оксида алюминия; подвижные фазы - циклогексан-толуол (6:1); гексан-ацетон (4:1); гексан-хлороформ (6:4) и гексан-бензол (45:55).

В работе [46] изложена методика определения некоторых пиретроидов в тонком слое силикагеля СТХ-1А на пластинах «Сорбфил» при использовании подвижных фаз толуол-ацетон-этанол-25% раствор аммиака (45:45:7:3) и хлороформ-метанол-25% раствор аммиака (31:8:1).

Детектирование пятен проводили реактивом Драгендорфа в модификации Мунье.

В литературе [47] представлены данные хроматографического анализа в тонком слое сорбента эсфенвалерата, вещества схожее по химической структуре с дельтаметрином. Хроматографирование проводили на пластинках Силуфол UV-254, подвижной фазой служила система растворителей гексан-хлороформ (5:5). При просматривании через УФ-свет эсфенвалерат обнаруживался в виде темно-фиолетовых пятен на светло-фиолетовом фоне пластины ($R_f=0,55\pm 0,02$).

Тонкослойную хроматографию синтетических пиретроидов, включающих гидролизуемую нитрильную группу, проводили по методике [48].

На пластины, покрытые силикагелем, наносили испытуемые вещества (фенвалерата, циперметрина, фенпропатрина) в ацетоне (каждый по 1 мг/мл). Подвижная фаза - гексан-ацетон (9:1). После насыщения пластины в камере, ее высушили и опрыскали 40%-м метанольным раствором гидроксида калия. В результате появились пятна розового цвета. Результаты R_f для фенвалерата -23, циперметрина-29, фенпропатрина-35.

В литературе [49] описаны качественный и количественный анализы синтетических пиретроидов методами газожидкостной и тонкослойной хроматографии. При газожидкостной хроматографии параметры удерживания дельтаметрина составляла 3,5 минуты, перметрина – 1,4 минуты, фенвалерата 3,1 минуты. При проведении ТСХ пиретроиды хроматографируют в системе гексан – ацетон (5:1), после обрабатывают пластинку водно-ацетоновым раствором нитрата серебра. При детектировании через УФ – облучатель появляются пятна серо – черного цвета. R_f для дельтаметрина составляет 0,45, для перметрина – 0,61, для фенвалерата – 0,34.

Также предложена [50] методика качественного определения пиретроидов с использованием пластинок «Силуфол» и У-254. Подвижная фаза использовалась гексан –ацетон (4:1). Для обнаружения пятен пластинку опрыскивали раствором фосфорновольфрамовой кислоты и родамина В.

Спектральные методы

В литературе [47,51] описывается метод УФ-спектрофотометрии эсфенвалерата. При анализе инфракрасного спектра данного вещества было обнаружено наличие ряда характерных полос, соответствующих определенным типам колебаний фрагментов молекулы данного вещества. В качестве растворяющей среды использовался 95% спирт. Было установлено, что в электронном спектре вещества присутствует несколько выраженных полос поглощения: 205—215 нм, 220—225 нм, 276—277 нм.

Авторами [52] было проведено исследование по качественному обнаружению дельтаметрина. Были приготовлены растворы дельтаметрина с концентрацией от 0,025 до 1 мг/л. В качестве растворителя использовали

метанол. Спектр поглощения был отсканирован в диапазоне от 200 до 400 нм. Максимальное поглощение было обнаружено при 220 нм. Калибровочная кривая в диапазоне от 0,025 до 1 мг/л соответствует $A = (0,3246 \pm 0,0224) C + (0,0096 \pm 0,0068)$ при $R^2 = 0,998$. Относительный коэффициент полезного действия составил 0,961, что указывает на хорошую повторяемость аналитической процедуры.

Предложен метод УФ-спектрофотометрии для идентификации перметрина (шампунь) после экстракции [53]. В качестве растворителя использовался н-гептан. Перметрин регистрировался в диапазоне от 250 до 310 нм, максимум при длине волны 272 нм.

Газожидкостная хроматография

Большинство пиретроидов являются летучими веществами, поэтому газожидкостная хроматография является наиболее эффективным методом идентификации данной группы.

В литературе [54] описана подробная методика анализа дельтаметрина методом ГЖХ. Исследование проводили на газовом хроматографе «Кристалл 2000М» с детектором электронного захвата (ЭЗД). Хроматографирование проводили на стеклянной колонке, сорбент — 3%-ый SE-30 на хромосорбе W(HP). Газ-носитель — азот.

В данном источнике проводится сравнительная характеристика между ГЖХ с насадочной и капиллярной колонками.

- Метод ГЖХ с насадочной колонкой. Колонка хроматографическая, стеклянная, неподвижная фаза - 3 % SE-30 на Хромосорбе W/HP. Скорость потока газа-носителя (азот) - 50 мл/мин. Объем вводимой пробы - 2 мкл. Время удерживания дельтаметрина - 3 мин.

- Метод ГЖХ с капиллярными колонками. Колонка капиллярная кварцевая ZB-1. Газ-носитель - азот, расход - 3,0 мл/мин; газ для поддува в детектор - азот, расход - 20 мл/мин. Объем вводимой пробы - 1 мкл. Время удерживания дельтаметрина - 14,24 мин.

В работе [55] для качественного и количественного определения синтетических пиретроидов используется газовый хроматограф с ПИД, на металлической колонке, сорбент — 3%-ый SE-30. Объем вводимой пробы - 1 мкл. В результате было найдено время удерживания перметрина – 3,5 минуты, циперметрина – 4,5 минуты, дельтаметрина – 6,5 минуты, эсбиотрина – 2 минуты.

Для определения пиретроидов методом ГЖХ предложены условия использовался газовый хроматограф фирмы Agilent 7890 A C/5975C MSD. В качестве газа-носителя использовали гелий; скорость подачи 1 мл/мин. Время удерживания эсфенвалерата составило 17,94 минуты [56].

В другом источнике [57] использовали газовый хроматограф Hewlett Packard 6890, оснащенный инжектором PTV (Gerstel CIS 4). Газом-носителем был гелий, расход которого составлял 1 мл в минуту. Минимально

детектируемое количество дельтаметрина в подобных условиях составляет 0,5 мг, а время удерживания- 6,33 минуты.

Для количественного определения пиретроидов автором [58] предложен метод ГЖХ. В методе газовой хроматографии для количественного определения сравнивают пик, образованный исследуемым образцом, с пиком, полученным при анализе известного количества стандартного раствора пиретроида. Это возможно при условии схожести пиков по интенсивности и проведении измерений в пределах линейного диапазона детектирования.

Высокоэффективная жидкостная хроматография

Авторы [59] провели ВЖХ для определения пиретроидов в воде, овощах и фруктах. В ходе работы использовали жидкостной хроматограф с диодноматричным детектором «Flexar DAD», колонка «XTerra RP18» фирмы «Waters» в подвижной фазе вода-ацетонитрил. Были использованы стандартные образцы пестицидов: циперметрин, эсфенвалерат, перметрин и другие. Скорость потока элюирования – 1,2 мл/мин. Для проведения анализа выбрана длина волны 220 нм.

В исследовании [60] были установлены методы анализа для 32 пиретроидов в образцах фруктов и овощей как с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии, так и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В проанализированной нами литературе описан способ определения дельтаметрина методом ВЭЖХ [61]. В данном методе использовалась колонка длиной 15 см, скорость потока элюирования – 80 мл/час. К роли подвижной фазы выступала смесь н-гексан - изопропиловый эфир (93:7). Анализ оптической плотности проводили при длине волны 230 нм. Время удерживания дельтаметрина - 7,6 минут.

Существует методика идентификации исследуемого пестицида с использованием метода ВЭЖХ. Он базируется на использовании колонки с сорбентом Silica-60, где в качестве подвижной фазы используется смесь изооктана-диоксана в соотношении 95:5, с элюированием со скоростью 100 мл/час. Для детектирования используется УФ-измерение с оптической плотностью, измеряемой в области 260 нм [62].

Были предложены условия для определения синтетических пиретроидов методом ВЭЖХ с УФ-детектированием в режиме градиентного элюирования на колонке с неподвижной фазой Zorbax Eclipse C-18. В качестве подвижной фазы использовалась смесь дигидрофосфата калия и ацетонитрила (85:15). Время удерживания дельтаметрина составило 20 минут [63].

1.6 Методы изолирования синтетических пиретроидов из биоматериала

В практике ХТА используются различные методы аналитической химии, обеспечивающие разделение компонентов и очистку от

сопутствующих веществ (белки, липиды, аминокислоты, жиры и др.), а также обнаружение и количественное определение ядовитых соединений.

Важных этапов химико-токсикологического анализа является изолирование токсических веществ из биологических объектов.

Экстракция пестицидов из биоматериалов затруднена из-за их склонности к разложению под воздействием кислот и щелочей [64]. В качестве экстрагентов используются растворители различной полярности (ацетонитрил, бензол, хлороформ, метанол, этанол, бензол, гексан, этилацетат), а также их смеси [65].

В источнике [54] изолирование пиретроидов проводят по следующей методике. К навеске (объекту исследования) добавляют 50 мл ацетонитрила, перемешивают, фильтруют. Остаток повторно экстрагируют 30 мл ацетонитрила, фильтруют. Из объединенного ацетонитрильного экстракта отбирают аликвоту раствора. Далее проводят очистку от примесей. Для этого раствор переносят в делительную воронку ёмкостью 100 мл, добавляют 10 мл гексана и встряхивают 1 минуту. После разделения слоёв гексановую фазу отбрасывают, а ацетонитрильную фазу фильтруют через бумажный фильтр и упаривают досуха на роторном испарителе при температуре 40°C.

В работе [66] извлечение дельтаметрина проводится трехкратной экстракцией хлороформом при pH 9-9,5 с добавлением натрия хлорида 25%.

Изолирования пиретроидов из печени животного происхождения описано в литературе [67]. Биоматериал помещают в делительную воронку, добавляют хлорид натрия, перемешивают. Проводят экстракцию хлороформом три раза. Далее экстракт пропускают через слой сульфата натрия и упаривают на водяной бане. Остаток в колбе растворяют в 1 мл гексана и хроматографируют.

В литературе [68] описаны условия извлечения некоторых пестицидов. Так, эфенвалерат изолируют из водно-диоксановых растворов (1:4).

Автор [69] изложил методику выделения пиретроидов из биологических жидкостей. Они экстрагируются эфиром, а из водной фазы после отделения эфирного слоя экстрагируют смесью гексан-ацетон. Эфирный экстракт упаривают в смеси с гексаном, к сухому остатку прибавляют серную кислоту для окисления органических веществ.

Отечественный автор Байзалданов Т. предлагает изолирование синтетических пиретроидов по следующей методике [24]:

Изолирование включает 2 этапа:

1 этап. Пиретроиды экстрагируют из объекта петролейным эфиром или гексаном и ацетоном 7:3, путем взбалтывания 10 минут. После проводится очистка экстракта от примесей смесью ацетон вода в соотношении 2:1.

2 этап. Отфильтрованный водный раствор экстрагируют с помощью н-гексана.

Также данный автор описывает метод изолирования пиретроидов настаиванием биообъекта с водой, подкисленной соляной кислотой до pH=2-

3, с последующим центрифугированием и отделением насадочной жидкости. Центрифугат экстрагируют хлороформом.

Литературный поиск показал, что основная часть публикаций по химико-токсикологическому анализу синтетических пиретроидов, посвящена определению в биологических объектах перметрина, эсфенвалерата. В научной литературе практически отсутствует информация о методиках изолирования и определения дельтаметрина в биоматериале.

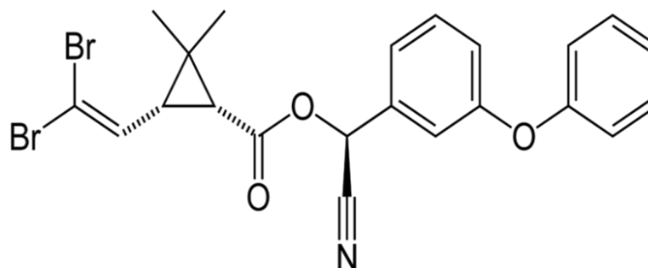
Таким образом, разработка методик изолирования, обнаружения и количественного определения дельтаметрина в биообъектах с использованием современных высокочувствительных методов является актуальным для выявления фактов острых отравлений.

2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данной главе представлены теоретические основы использованных в работе методов анализа и описание объектов исследования.

2.1 Объекты исследования

Дельтаметрин (*Deltamethrinum*)



(1R)-цис-3-{2,2-дибромвинил}-2,2-диметилциклопропанкарбоновой кислоты (S)-3-фенокси-α-цианбензиловый эфир

Белый кристаллический порошок, не обладающий запахом, с температурой плавления 95-100°C. Молекулярная масса - 505,21 г/моль.

Практически нерастворим в воде. Растворим в органических растворителях: ацетоне, бензоле, диоксане, диметилсульфоксиде, циклогексане, этаноле. Дельтаметрин также хорошо растворимы в ацетонитриле, хлороформе [25,42].

При проведении исследования в качестве стандартного образца использовали дельтаметрин, выделенный из химического вещества – концентрат эмульсия «Дельцид» фирмы «АГРОВЕТЗАЩИТА» (Россия) с содержанием основного вещества 99,0%.

Модельная смесь. Для проведения качественного и количественного анализа дельтаметрина, выделенного из материала, необходимо сначала исследовать и проанализировать чистый препарат.

В качестве биологического материала использовали модельные смеси, состоящие из исследуемого вещества и печени животного происхождения.

2.2 Методы исследования

Во время проведения исследований по идентификации дельтаметрина нами были использованы физико-химические методы анализа, такие как тонкослойная хроматография (ТСХ), ультрафиолетовая спектрофотометрия (УФ-спектрофотометрия), а также химические методы анализа.

Для количественного определения дельтаметрина был применен метод УФ-спектрофотометрии.

2.2.1 Химические методы исследования

Химические методы идентификации пиретроидов включают в себя осадительные, цветные реакции и реакции на взаимодействие с

функциональными группами. Эти методы были использованы для идентификации дельтаметрина как отдельного вещества, а также для обнаружения его в экстрактах из биологического материала. Для проведения химических методов идентификации мы прибегли к методикам, описанным в научной литературе.

Цветные реакции. В основе реакций окрашивания лежат такие процессы, как дегидратация, окисление и конденсация. Они используются для определения к какому классу соединений относится исследуемое вещество, или для исключения категорий или классов соединений. В качестве реактивов нами были использованы концентрированная серная и азотная кислоты, реактив Марки, реактив Фреде, реактив Манделина и реактив Эрдмана [70].

Осадительные реакции. Для определения веществ основного характера часто рекомендуется использовать осадительные реактивы. При предварительной идентификации обычно применяют стандартный набор реактивов, включающий реактивы, такие как Драгендорфа, Майера, Бушарда-Вагнера, а также фосфорно-вольфрамовую и фосфорно-молибденовую кислоты [69].

Реакции на функциональные группы. Идентификация функциональных групп обычно происходит после предварительных испытаний и качественного элементного анализа. Не рекомендуется начинать исследование функциональных групп в полностью неизвестном веществе. Для качественного анализа функциональных групп рекомендуется применять реакции, в результате которых происходят изменения окраски или образование осадков.

2.2.2 Хроматографические методы

2.2.2.1 Тонкослойная хроматография

В практике химико-токсикологического анализа пестицидов широко применяется метод ТСХ [73].

Тонкослойная хроматография является наиболее эффективным методом идентификации синтетических пиретроидов. В добавок ТСХ является одним из самых простых и универсальных методов из-за его низкой стоимости, простоты, чувствительности и хорошей воспроизводимости [74].

Тонкослойная хроматография – это хроматографический метод, основанный на разделении компонентов. При хроматографировании в тонком слое сорбента обеспечивается передвижение по неподвижной фазе (сорбенту) подвижной фазы (элюента). При передвижении смеси подвижной фазы (растворителя и исследуемого вещества) происходит разделение, основанное на различной скорости их перемещения в слое сорбента [73].

По механизму разделения ТСХ основана процессах: распределения, адсорбции и ионного обмена.

Неподвижная фаза. Основной компонент ТСХ это неподвижная фаза. Метод выполняется на специальных стеклянных, алюминиевых или

пластиковых пластинах, покрытых тонким слоем сорбента: силикагель, целлюлоза, окись алюминия, кизельгель, сефадекс, полиамид [75]. Часто в хроматографии применяют готовые пластинки «Силуфол» и «Сорбфил».

Подвижная фаза. Для разделения смесей пестицидов и их идентификации по значениям R_f наиболее эффективны двух- или трехкомпонентные системы растворителей на основе гексана и толуола, с добавлением полярных растворителей, таких как ацетон, бензол и хлороформ. В случае с синтетическими пиретроидами рекомендуется использование многокомпонентных систем для более эффективного разделения смесей [76].

Методика выполнения ТСХ. На хроматографическую пластинку наносятся исследуемые растворы с использованием микрошприца. Предварительно проводится отметка стартовой линии на расстоянии 1,5 см от края пластинки, расстояние между отдельными пробами должно быть не менее 1 см. После высыхания растворителя пластинка опускается в камеру с выбранной подвижной фазой. В зависимости от направления поступления растворителя на пластинку различают методы восходящей, нисходящей и горизонтальной хроматографии [74, 75].

Идентификация компонентов. После разделения веществ важно обнаружить их на хроматограмме. Для обнаружения бесцветных веществ обычно применяют физические методы, такие как поглощение света или флуоресценция. Для обнаружения веществ, поглощающих в УФ-области спектра, часто используют пластинки с флуоресцирующим веществом или обрабатывают хроматограмму раствором флуоресцирующего вещества. При облучении пластинки УФ-излучением вещества, поглощающие в этой области спектра, выявляются как темные зоны. Флуоресцентными в УФ-свете могут оказаться многие вещества, поэтому полученные пятна имеют различные оттенки.

Для обнаружения флуоресцирующих веществ или веществ, поглощающих в УФ-области спектра, используют источники света с максимальной интенсивностью излучения в области 254 и 365 нм. Помимо оптических методов обнаружения веществ, применяют химические методы проявления хроматограмм. Среди химических методов используются «универсальные реагенты» и реагенты, реагирующие с определенными функциональными группами. Универсальным, но неселективным реагентом является йод, раствор перманганата калия, раствор дихромата калия [77].

Основной показатель качественного анализа методом тонкослойной хроматографии является (R_f). R_f равен отношению расстояния, пройденного веществом от точки нанесения пятна до центра пластины к расстоянию, которое прошел элюент от линии старта до линии финиша [74].

Формула коэффициента удерживания:

$$R_f = \frac{Lx}{Ls}; (2.1)$$

где:

L_x - длина пробега от линии старта до центра пятна на хроматограмме исследуемого соединения;

L - длина пробега элюента от линии старта до линии фронта хроматограммы.

Величина R_f может зависеть от множества факторов, включая природу сорбента, толщину слоя, природу растворителей, их соотношения, температуру и другие. Однако, в связи с этими переменными, точность идентификации веществ может быть улучшена за счет использования показателя R_s .

Показатель R_s представляет собой отношение R_f исследуемого вещества к R_f вещества, принятого за стандарт. Использование R_s увеличивает достоверность результатов, поскольку этот показатель учитывает вариации, связанные с условиями проведения хроматографии [76,77].

2.2.3 Спектрофотометрические методы анализа

2.2.3.1 Метод УФ-спектрофотометрии

В химико-токсикологическом анализе спектрофотометрия является распространённым методом исследования химических веществ. Исследование дельтаметрина спектрофотометрией проводили при его идентификации, а также при определении препарата в вытяжках из биологического материала [78].

Адсорбционная спектрофотометрия в УФ области измеряет плотность растворов при длине волны 190 – 380 нм.

Метод основан на измерение поглощения атомом или молекулой электромагнитного излучения в диапазоне длин волн ультрафиолетового (УФ) света. [79].

Основной принцип метода заключается в сравнении поглощения излучения исследуемого вещества со спектром стандартного раствора.

В нашей работе использовался спектрофотометр Agilent Cary 60, предназначенный для измерения в УФ- и видимой области спектра, оптическая система которого выделяет монохроматическое излучение в области от 200 нм до 800 нм.

Важным условием УФ-спектрофотометрии является подчинение закону Бугера-Ламберта-Бера. Закон связывает поглощение с толщиной слоя испытуемого вещества с концентрацией испытуемого вещества в растворе. Закон выглядит следующим образом [80]:

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon * C * B \quad (2.2)$$

где:

I_0 – интенсивность падающего на вещество излучения;

I - интенсивность прошедшего через вещество излучения;

ε - молярный показатель поглощения;

B - длина оптического пути, в см;

C - концентрация вещества в растворе, моль/л.

Спектральные характеристики снимали в различных растворителях: этанол, диоксан, хлороформ.

Метод УФ-спектрофотометрии представляет собой удобный и простой способ анализа, однако требует тщательной очистки образцов от лишних примесей из-за их чувствительности к ним. В области токсикологической химии этот метод сталкивается с проблемой наличия в образцах балластных и сопутствующих веществ, что является затруднительным при анализе биологических объектов [81].

2.2.4 Методы изолирования органических веществ из объектов биологического происхождения

На сегодняшний день в токсикологической химии нет определенного единого метода изолирования синтетических пиретроидов. Это обусловлено тем, что некоторые пиретроиды легко разрушаются кислотами или щелочами [65].

Химико-токсикологический анализ состоит из нескольких этапов, первый из которых является изолирование анализируемого вещества. Изолирование представляется собой процесс перевода токсических веществ из биообъектов в жидкую фазу. В качестве растворителей используются малополярные или полярные органические растворители.

Следующий этап - очистка вещества от примесей и механических загрязнений с помощью методов экстракции, фильтрования, центрифугирования и др.

Немаловажным этапом изолирования токсического вещества является подготовка объектов к изолированию. Это этап очистки от балластных веществ эндогенного происхождения (белков, продуктов распада белковых молекул, пигментов, ферментов). Выделяют всевозможные этапы очистки вредных химических веществ, взятых из биологических объектов: фильтрация перегонкой с водяным паром, кристаллизацией, колоночная хроматография, хроматография в тонком слое сорбента.

Один из простых способов очистки экстрактов от липидов на первом этапе - это вымораживание. На следующих этапах используют экстракционную очистку, хроматографические методы: ТСХ, колоночную хроматографию, гельпроникающую или флеш – хроматографию. Также для очистки мешающих примесей применяют ультразвуковую, микроволновую, сверхкритическую флюидную, сверхкритическую жидкостную экстракции [65].

В последнее время часто используют метод микроволновой экстракции. Данный метод основан на использовании энергии микроволнового излучения. Метод микроволновой экстракции имеет ряд

преимуществ, одним из которых является высокая скорость и использование малых количеств растворителей.

Для проведения оптимального метода изолирования дельтаметрина из биологического материала нами были изучены условия экстракции дельтаметрина органическими растворителями.

Последний этап включает обнаружение и количественный анализ исследуемого вещества [82].

3. МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ДЕЛЬТАМЕТРИНА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ)

3.1 Химические методы идентификации

Для идентификации дельтаметрина нами были использованы цветные и реакции осаждения, а также реакции на функциональные группы.

Для проведения реакций использовали стандартный раствор дельтаметрина 40 мг/мл.

Чувствительность реакций и предельное разведение рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{V \cdot 10^6}{m}, m = \frac{C}{V \cdot 10^6}; (3.1)$$

где:

C- предельное разведение;

V- объем капли, мл (0,05);

m- предел обнаружения, мкг.

3.1.1 Цветные реакции

При проведении цветных реакций были использованы реактивы, указанные в разделе 2.2.1.

Испарение стандартного раствора дельтаметрина производится в фарфоровых чашках или углублениях на фарфоровых пластинках, после чего полученные сухие остатки подвергаются анализу путем нанесения соответствующих реактивов.

При взаимодействии дельтаметрина с серной кислотой, реактивом Марки, реактивом Фреде, реактивом Манделина и Эрдмана окраска не наблюдалась.

Таблица 4 - Определение и пределы чувствительности цветных реакций дельтаметрина с некоторыми реактивами

Реактив	Окраска	Предел обнаружения, мкг в пробе
Реактив Марки	Не обнаружена	-
Реактив Фреде	Не обнаружена	-
Реактив Манделина	Не обнаружена	-
Конц.серная кислота	Не обнаружена	-

Цветные реакции на дельтаметрин не дали результатов и не могут быть использованы в качестве предварительных проб.

3.1.2 Осадительные реакции

Для выполнения осадительных реакций был использован стандартный набор алкалоидных реактивов, указанный в разделе 2.2.1.

Каплю стандартного раствора дельтаметрина наносили на предметное стекло и выпаривали. Сухой остаток на стекле растворяли в 1-2 каплях C_2H_5OH .

Затем на стекло наносили каплю реактива Драгендорфа (раствор йодида висмута в йодиде калия) и соединяли капли с помощью стеклянной палочки. Осадка не наблюдалось.

При добавлении капли реактива Бушарда – Вагнера (раствор йода в йодиде калия) осадок не наблюдался. Также осадка не наблюдалось и при реакции с реактивом Майера.

Однако, при добавлении фосфорно-молибденовой кислоты появился осадок желтого цвета. Предел обнаружения 3 мкг на 1 мл пробы.

Для данных реагентов были определены значения предела обнаружения дельтаметрина, представленные в табл.5.

Таблица 5 - Определение и пределы чувствительности осадительных реакций дельтаметрина с некоторыми реактивами

Реактив	Осадок	Предел обнаружения, мкг в пробе
Реактив Драгендорфа	Не наблюдался	-
Реактив Бушарда-Вагнера	Не наблюдался	-
Реактив Майера	Не наблюдался	-
Фосфорно-молибденовая кислота	Осадок желтого цвета	3 мкг

3.1.3 Реакции на функциональные группы

Дельтаметрин является сложным эфиром, производным карбоновой кислоты.

При гидролизе дельтаметрина сначала происходит разрыв сложной эфирной связи, после чего образующиеся спирт и кислота могут претерпевать различные химические реакции, такие как окисление и гидроксирование, превращаясь в разнообразные продукты. Один из таких продуктов метаболизма дельтаметрина является высокотоксичная синильная кислота.

При взаимодействии дельтаметрина с гексацианоферратом натрия (II) появляется осадок синего цвета. Предел обнаружения 0,5 мкг в 1 мл пробы.

При взаимодействии дельтаметрина с нитратом калия в присутствии концентрированной серной кислоты после нагревания образуются нитропроизводные. После добавления гидроксида натрия образуется интенсивно окрашенные аци-нитропросоли желтого цвета. Предел обнаружения 0,4 мкг в 1 мл пробы.

Дельтаметрин в водно-щелочной среде образует цветные продукты с солями тетразолия (2,3,5-трифенилтетразолия). В результате появилось желто-оранжевое окрашивание. Предел обнаружения 0,2 мкг в 1 мл пробы.

Реакция с нитратом серебра (на бромид-ион). Бромид-ионы идентифицируют по реакции с серебра нитратом и образованию осадка, растворимого в аммиаке. К 2 мл раствора добавляли 0,5 мл раствора нитрата серебра. В результате образовался желтовато-белый осадок, растворенный в растворе аммиака. Предел обнаружения: 1000 мкг на 1 мл пробы.

Таблица 6 - Определение и пределы чувствительности функциональных реакций дельтаметрина с некоторыми реактивами

Реактив	Осадок	Предел обнаружения, мкг в пробе
Гексацианоферрат натрия (II)	Синего цвета	0,5
Нитрат калия	Желто-оранжевое окрашивание	0,4
2,3,5-трифенилтетразолия	Желтое окрашивание	0,2

Представленные реакции с реактивами на функциональные группы могут быть использованы только в качестве предварительных проб на

наличие дельтаметрина и должны быть подтверждены данными физико-химических методов анализа.

3.2 Физико-химические методы обнаружения дельтаметрина

Значение различных видов хроматографии в практике судебно-химического анализа обусловлено их широким применением для очистки, концентрирования, качественного и количественного определения токсических веществ в процессе исследования извлечений из биологического материала.

Нами рассмотрена возможность применения методов ТСХ и УФ-спектрофотометрии для идентификации дельтаметрина.

3.2.1 Метод тонкослойной хроматографии (ТСХ)

С целью обнаружения и предварительной идентификации дельтаметрина применен метод тонкослойной хроматографии — ТСХ.

Тонкослойная хроматография играет ключевую роль в химико-токсикологическом анализе. Исследование хроматографической подвижности дельтаметрина проводилось при помощи метода тонкослойной хроматографии.

ТСХ - это широко используемый, быстрый и относительно недорогой метод разделения сложных смесей. Этот метод широко применяется для разделения и идентификации синтетических пиретроидов в образцах биологического материала.

Учитывая вышеперечисленные достоинства метода, нами была поставлена цель, провести исследование при помощи метода ТСХ.

Для исследования дельтаметрина методом хроматографии в тонком слое сорбента были подобраны оптимальные хроматографические системы растворителей. Хроматографирование в тонком слое сорбента проводили восходящим методом в предварительно насыщенных камерах.

Идентификацию дельтаметрина проводили следующим образом: на линию старта хроматографической пластины «Сорбфил» марки «ПТСХ-П-А-УФ» наносили по 4 мкл исследуемого вещества, затем помещали в камеру с системой растворителей, предварительно насыщенную в течение 30 мин. В качестве подвижных фаз рассмотрены: гексан-бензол (5:5), гексан-ацетон (4:1), этилацетат - этанол - аммиак (34:4:2), хлороформ – ацетон - аммиак (85:3,4:11,6), гексан - толуол (8:6), хлороформ, хлороформ - этанол (90:10).

После прохождения длины пробега растворителей 10 см, пластинку вынимали и высушивали. Для детектирования пятно рассматривали в УФ-свете при длине волны 254 нм.

Детектирование полученных хроматограмм проводили при помощи реактивов, указанных в табл.7.

Таблица 7- Значения Rf дельтаметрина полученные при хроматографировании в различных системах растворителей

№	Хроматографическая система	Значение Rf дельтаметрина
1	гексан-бензол (5:5)	0,60
2	гексан-ацетон (4:1)	0,56
3	этилацетат - этанол - аммиак (34:4:2)	0,65
4	хлороформ- ацетон- аммиак (85:3,4:11,6).	0,61
5	гексан-этанол (8:1)	0,58
6	Хлороформ	0,60
7	хлороформ - этанол (90:10)	-

В результате проведенных исследований наблюдалось что, наиболее эффективное разделение дельтаметрина методом ТСХ достигается при использовании системы растворителей: этилацетат, этанол и аммиак.

Детектирование полученных хроматограмм проводили при помощи реактивов, указанных в табл.8.

Таблица 8 - Данные, полученные в результате детектирования дельтаметрина детекторами, применяемые в ХТА

Проявитель	Окрашивание	Предел обнаружения, мкг
УФ- свет (254,365 нм)	Область поглощения темно-фиолетового пятна при 254 нм	1 мкг
Реактив Драгендорфа	-	-
Нитрат серебра	-	-
Раствор перманганата калия 0,3%	Светло-желтые пятна	5 мкг
2,3,5-трифенилтетразолия	Желтые пятна	0,2 мкг

При обработке пластинки «Сорбфил» раствором 2,3,5-трифенилтетразоля дельтаметрин образовал желтые пятна.

Установлено, что оптимальный способ детектирования дельтаметрина является облучение хроматографической пластинки в УФ-свете (254 нм), с последующим опрыскиванием раствором 2,3,5-трифенилтетразоля.

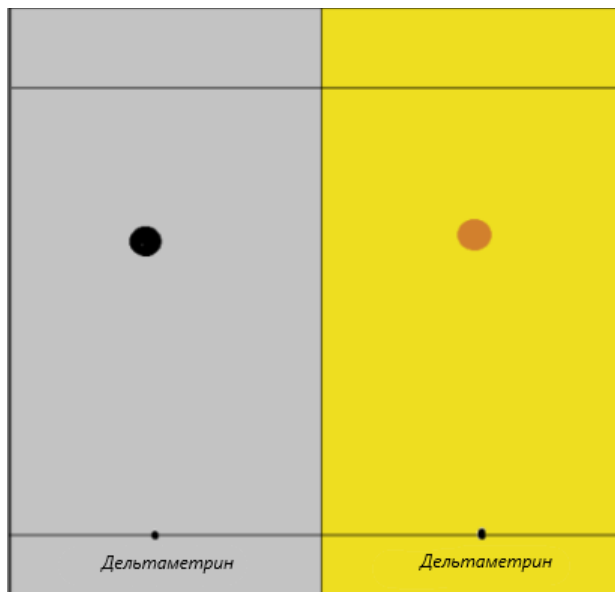


Рисунок 2 - Схема детектирования дельтаметрина
Вид хроматографической пластины при облучении УФ-светом при 254 нм
(слева)
При обработке раствором 2,3,5-трифенилтетразоля (справа)

Дальнейшим нашим этапом стало определение чувствительности выбранных реагентов относительно дельтаметрина. Для этого мы наносили микрошприцом на пластинки стандартные растворы анализируемого вещества в количестве, соответствующем 4,0; 3,0; 2,0; 1,5; 1,0; 0,5; 0,3 мкг.

Затем, после проведения хроматографии и пластинки высушивали и исследовали образовавшиеся пятна при использовании УФ-света (254 нм). Результаты показали, что дельтаметрин мог быть обнаружен в количестве 1 мкг и более.

После обработки хроматографической пластины раствором 2,3,5-трифенилтетразоля также наблюдались пятна дельтаметрина, что также указывало на его присутствие в количестве 0,2 мкг и более, при этом пластинка окрасилась в желтый цвет.

3.2.2 Метод УФ- спектрофотометрии

Метод ультрафиолетовой спектрофотометрии (УФ) находит широкое применение в ХТА. Он применяется при идентификации количественного определения токсических веществ.

Наличие в структуре дельтаметрина ароматических колец, атомов азота (цианогруппы) и кислорода (сложная эфирная и карбонильная группы), несущие неподеленные пары электронов, обуславливают возможность данного соединения поглощать электромагнитное излучение в области УФ-спектра, а также демонстрировать характерные максимумы.

Идентификация дельтаметрина методом УФ-спектрофотометрии осуществлялся спектрофотометром Agilent Cary 60. Определение оптической плотности проводили в кювете толщиной слоя 1 см при длине волны от 190-360 нм. Измерения проводились на фоне контрольных растворов.

Для изучения спектров дельтаметрина готовили его растворы в растворителях с расчетом, чтобы концентрация составляла 0,025 мг/мл. В качестве растворителей использовались хлороформ, диоксан и этанол.

В УФ-спектре раствора дельтаметрина в диоксане, наблюдался максимум поглощения при длине волны 274 нм (Рисунок 3).

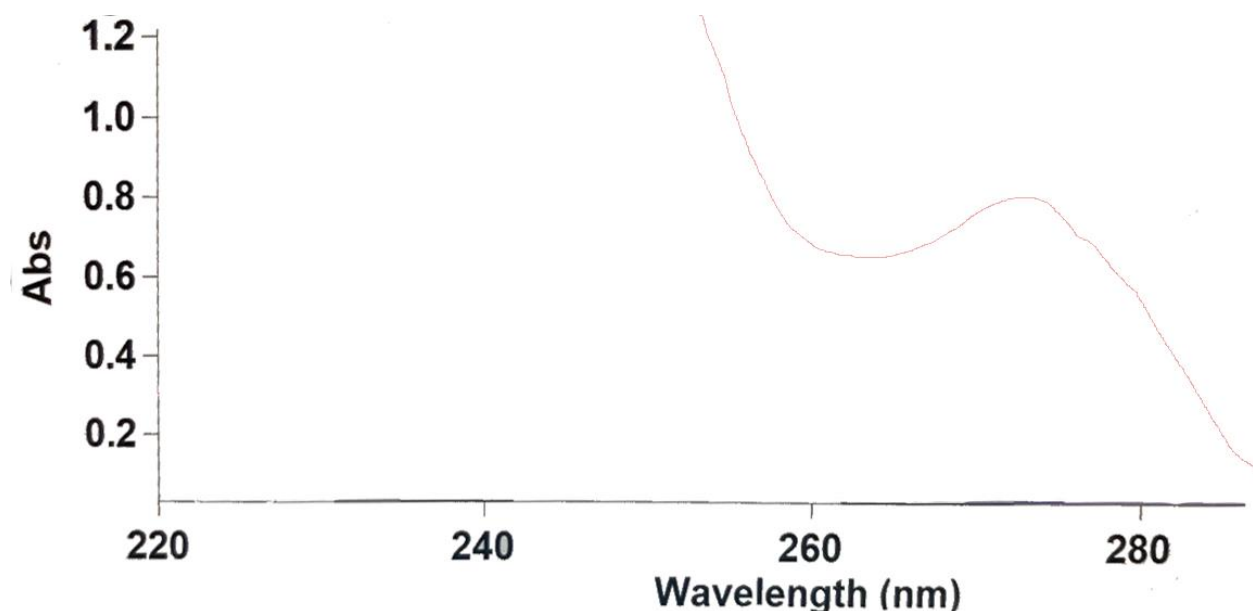


Рисунок 3 - УФ-спектр раствора дельтаметрина (0,025 мг/мл) в диоксане

В УФ-спектре раствора дельтаметрина в хлороформе, мы наблюдали максимум при длине волны 275 нм (Рисунок 4).

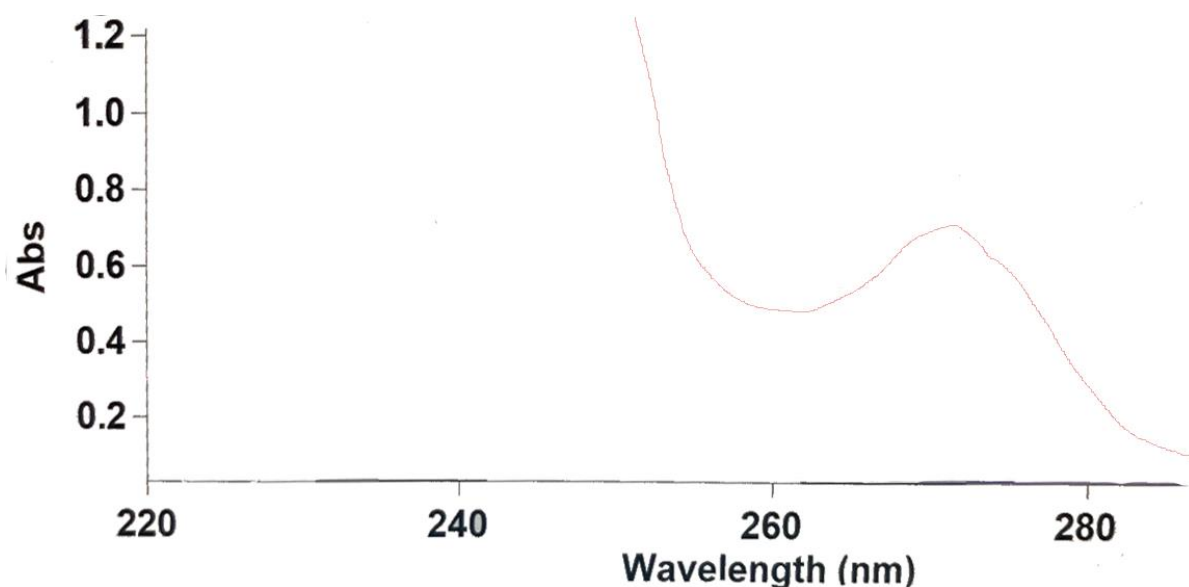


Рисунок 4 - УФ-спектр раствора дельтаметрина (0,025 мг/мл) в хлороформе

В этаноле мы наблюдали максимум поглощения при длине волны 276 нм (Рисунок 5).

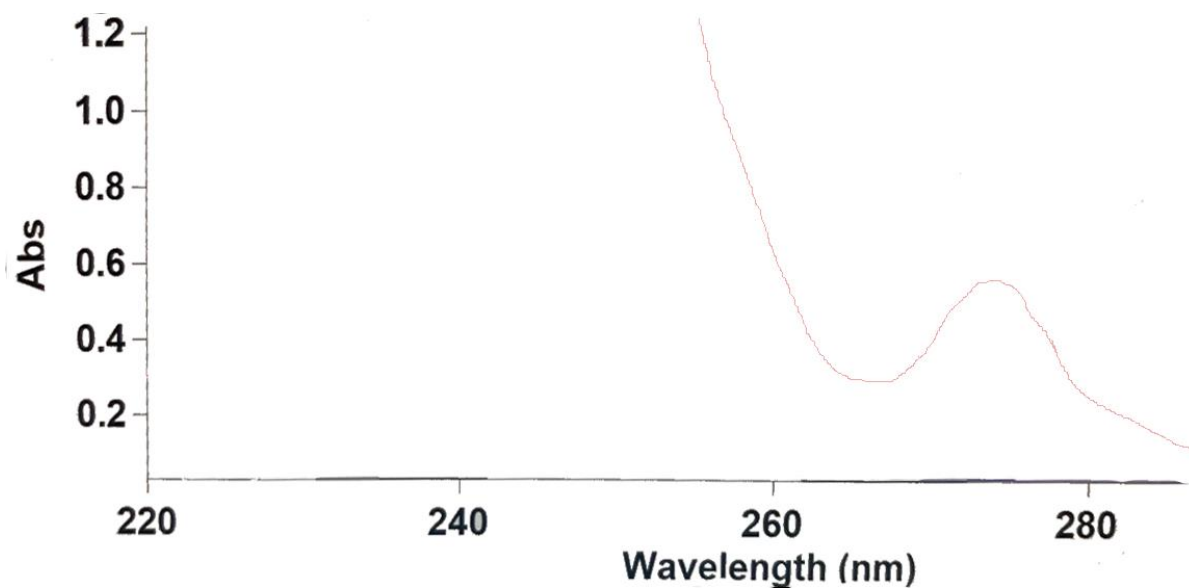


Рисунок 5 - УФ-спектр раствора дельтаметрина (0,025 мг/мл) в этаноле

В результате нами было установлено, что спектральные кривые дельтаметрина, полученные в различных растворителях, характеризуются наличием выраженных полос поглощения с максимумами в области длин волн ± 274 нм диоксан, ± 275 нм хлороформ, ± 276 нм этанол (Таблица 9).

Таблица 9 - Зависимость оптической плотности раствора дельтаметрина от применяемых растворителей

№	Длина волны	Оптическая плотность		
		Хлороформ	Диоксан	Этанол
1	260	0,401	0,647	0,426
2	263	0,422	0,621	0,403
3	265	0,435	0,578	0,379
4	267	0,473	0,665	0,384
5	270	0,552	0,723	0,407
6	272	0,561	0,751	0,421
7	274	0,687	0,786	0,476
8	275	0,720	0,764	0,518
9	276	0,423	0,721	0,522
10	277	0,380	0,602	0,508
11	278	0,345	0,574	0,461
12	279	0,306	0,563	0,304

Таким образом, в ходе исследования нами было установлено, что наиболее интенсивный максимум поглощения наблюдался при длине волны 276 нм, где в качестве растворителя был этанол.

Следующим этапом было определение удельного и молярного коэффициента светопоглощения.

Удельный ($A_{1\text{см}}^{1\%}$) и молярный (ϵ) коэффициент светопоглощения рассчитывают по следующим формулам:

$$A_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{b \cdot C}, (3.2)$$

где:

A - оптическая плотность;

b - толщина слоя, см (1 см);

C - концентрация раствора дельтаметрина, % ($\cdot 10^{-4}$),

Молярный коэффициент светопоглощения можно также определить с помощью следующей формулы:

$$\epsilon = (A_{1\text{см}}^{1\%}) \cdot \frac{M}{10}, (3.3)$$

где:

M - молярная масса дельтаметрина.

Таблица 10 - Спектральные характеристики дельтаметрина в различных растворителях

Растворители	Дельтаметрин	
	$A_{1\text{см}}^{1\%}$	ϵ
Этанол	20,88	1054,8
Диоксан	31,44	1588
Хлороформ	28,8	1455

4. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕЛЬТАМЕТРИНА

4.1 Метод УФ – спектрофотометрии

Количественное определение методом УФ-спектрофотометрии нашел широкое применение в токсикологической химии. Данный метод является доступным, достаточно чувствительным и специфичным.

Для количественного анализа нами использовались предварительно полученные УФ - спектры раствора дельтаметрина в этаноле (разд. 3.2.2).

Построение калибровочного графика. В мерную колбу емкостью 5 мл вносили по 0,00025, 0,0005; 0,000625; 0,00075; 0,001; 0,00125 мл стандартного раствора дельтаметрина (в 1 мл раствора содержалось 40 мг препарата). Изменение проводили на спектрофотометре Cary при длине волны 276 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В виде раствора сравнения использовали этанол. По результатам измерения оптической плотности рассчитывали удельные и молярные коэффициенты светопоглощения. Результаты приведены в таблице 11.

Таблица 11 - Результаты статистической обработки величины удельного и молярного коэффициентов светопоглощения раствора дельтаметрина в растворе этанола (среднее значение 5 измерений)

Концентрация дельтаметрина, мкг/мл	Оптическая плотность	$A_{1\text{см}}^{1\%}$	Метрологические характеристики	ε	Метрологические характеристики
10	0,15	15	$\bar{X}=18,66;$ $S^2=4,2;$	757,8	$\bar{X}=943,05;$ $S^2=10920,7;$
20	0,35	17,5	$s=2,06;$	884,1	$s=104,5;$
25	0,49	19,6	$s_{\bar{x}}=0,84;$	990,2	$s_{\bar{x}}=42,6;$
30	0,62	20,6	$\Delta\bar{x}=\pm 0,34;$	1040,7	$\Delta\bar{x}=\pm 0,95;$
40	0,78	19,5	$\bar{\varepsilon}=2,32;$	985,2	$\bar{\varepsilon}=0,09;$
50	0,98	19,8	$\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 18,66 \pm 0,34$	1000,3	$\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 943,05 \pm 0,95$

Расчеты удельного и молярного коэффициентов светопоглощения проводили по формуле:

$$A_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{C \cdot l}; \quad (4.1)$$

где:

$A_{1\text{см}}^{1\%}$ - удельный коэффициент светопоглощения;

A – оптическая плотность;

C - концентрация вещества, %;

l - толщина слоя жидкости, см.

$$\varepsilon = A_{1\text{см}}^{1\%} * \frac{M(\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{Br}_2\text{NO}_3)}{10}; \quad (4.2)$$

где:

ε - молярный коэффициент светопоглощения;

M - молекулярная масса вещества.

Разработанную нами методику применили для количественного анализа дельтаметрина методом УФ - спектрофотометрии в растворах различной концентрации. Для этого построили калибровочный график (рисунок 6).

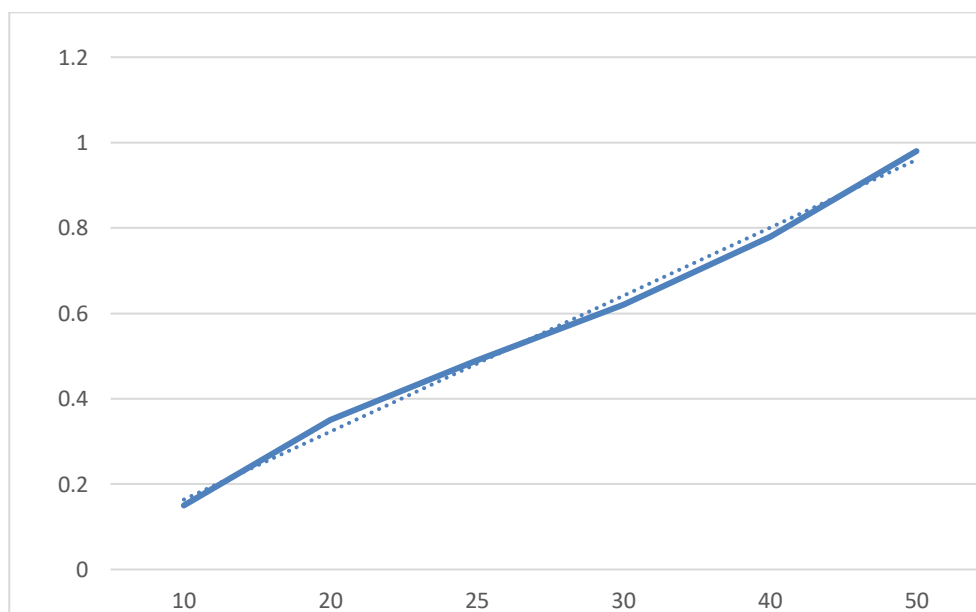


Рисунок 6 - Калибровочный график определения раствора дельтаметрина в этаноле

На основании результатов анализа, приведенных в таблице было установлено, что дельтаметрин подчиняется основному закону светопоглощения Бугера-Ламберта-Бера в пределах 10 – 40 мкг препарата в 1 мл раствора.

Уравнение линейной зависимости $y = 0.0216x - 0.062$. Коэффициент корреляции равен 0,99.

Статистическую обработку данных, полученных спектрофотометром Agilent Cary 60 для определения количественного анализа дельтаметрина в растворах, проводили с помощью компьютерных программ SPSS Statistics и MS Excel 2016.

Таблица 12 - Результаты спектрофотометрического количественного определения раствора дельтаметрина в этаноле с помощью калибровочного графика (среднее значение 5 измерений)

Взято дельтаметрина, мкг	Оптическая плотность (A)	Найдено		Метрологические характеристики
		мкг	%	
10	0,15	8,95	89,5	$\bar{X} = 93,62\%$ $S^2 = 5,5;$ $s = 2,3$ $s_{\bar{x}} = 1,05$ $\Delta\bar{X} = 0,38;$ $\bar{\varepsilon} = 1,38$ $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 93,6 \pm 0,38$
20	0,35	18,8	94	
25	0,49	23,6	94,4	
30	0,62	28,5	95	
40	0,78	38,1	95,2	

5. ИССЛЕДОВАНИЕ УСЛОВИЙ ЭКСТРАКЦИИ ДЕЛЬТАМЕТРИНА

5.1 Экстракция дельтаметрина органическими растворителями

В химико-токсикологическом анализе метод экстракции является обязательным этапом изучения отравляющих веществ.

Методы экстракции широко применяются для отделения токсичных веществ от объектов биологического происхождения, очистки примесей в экстрактах из биологического материала, для выделения ядовитых веществ из предварительно очищенных вытяжек.

Экстракция - это процесс извлечения растворителями соответствующих веществ из различных биообъектов. Объекты, из которых извлекают соответствующие соединения, могут быть твердыми веществами и жидкостями. Поэтому процессы извлечения подразделяют на экстракцию в системе твердое тело - жидкость и на экстракцию в системе жидкость - жидкость (жидкостную экстракцию).

Для экстракции веществ в системе твердое тело - жидкость в качестве экстрагентов используются органические растворители. Использование воды для извлечения природных веществ из твердых тел называется выщелачиванием.

Процесс извлечения (выщелачивания) включает несколько этапов. Основной этап: проникновение экстрагента в клетку и ткань, трупный материал и другие объекты, в которых присутствует исследуемое вещество; растворение веществ в экстрагенте или взаимодействие ядов с экстрагентом в клетках и тканях биологического материала; перенос растворенного токсического вещества через оболочки клеток в межклеточное пространство и смешивание извлеченных из клеток веществ с основной массой экстрагента.

Жидкость - жидкостная экстракция - это процесс разделения растворенного вещества между двумя несмешивающимися жидкостями.

Степень выделения вещества из организма зависит от следующих факторов:

- растворимость ограничивающего токсичного вещества в экстракционном растворителе;
- структура (пористость) биоматериалов;
- способность экстрагента проникать в клеточные и тканевые биоматериалы;
- степень измельчения биоматериалов;
- биологические материалы и экстрагенты;
- кратности настаивания биологического материала с экстрагентом;
- температура, рН окружающей среды и многие другие факторы.

В настоящее время в химико-токсикологическом анализе пестицидов нет определенной методики изолирования синтетических пиретроидов. Проведение изолирования пиретроидов по общеизвестным методам осложнено их низкой растворимостью в воде, что добавляет дополнительные трудности в процессе анализа.

В качестве возможных экстрагентов были рассмотрены следующие органические растворители: хлороформ, этилацетат и н-гексан. Первоначально установлено, что рН никак не влияет на степень извлечения дельтаметрина. Поэтому мы рассматривали в каком из органических растворителей лучше всего выход исследуемого вещества.

Изучение экстракции дельтаметрина проводили по следующей методике [84]: в колбу объемом 100 мл вносили 1 мл раствора дельтаметрина (25 мкг/мл), и 10 мл органического растворителя. В качестве органических растворителей использовали хлороформ и этилацетат и н-гексан. Экстракцию проводили однократно на протяжении 5 минут. Смесь в течении 10 минут отстаивали для разделения фаз, после чего слой органического растворителя отделяли в делительной воронке и упаривали на водяной бане. Сухой остаток, полученный после испарения экстрагента, растворяли в этаноле. Степень извлечения дельтаметрина оценивалась методом УФ-спектрофотометрии на спектрофотометре при длине волны 276 нм.

Наибольшие значения степени извлечения дельтаметрина удаётся достичь при использовании в качестве изолирующего агента хлороформа 87,36%.

6. ВЫДЕЛЕНИЕ ДЕЛЬТАМЕТРИНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

6.1 Выделение дельтаметрина из объектов биологического происхождения с помощью классических методов изолирования

Изолирование токсичных веществ из биологических материалов является важным этапом химико-токсикологического анализа. При использовании неподходящего метода выделения исследуемых веществ из объектов биологического происхождения в ходе химико - токсикологического исследования могут быть содержатся большие количества примесей, мешающих обнаружению и количественному определению исследуемых соединений.

В процессе исследования нами была проанализирована эффективность изолирования исследуемого вещества из биоматериала с помощью традиционных методов. К таким методам изолирования пестицидов относятся методы:

- Стаса-Отто (изолирование этиловым спиртом, подкисленным щавелевой кислотой);
- А.А. Васильевой (изолирование водой, подкисленной щавелевой кислотой);
- В.П. Крамаренко (изолирование водой, подкисленной серной кислотой).

Также нами было проведено изолирование дельтаметрина по запатентованной методике В.К. Шорманова, Е.Н. Чигаревой и О. В. Белоусовой.

Для изолирования дельтаметрина с помощью общепринятых методов изолирования нами была использована модельная смесь, состоящая из исследуемого препарата - дельтаметрина и трупной печени животного происхождения.

6.1.1 Выделение дельтаметрина по методу Стаса-Отто

При изолировании дельтаметрина из биоматериала нами был рассмотрен метод Стаса-Отто приведенный в литературе [84, 85]. В процессе, нами были внесены некоторые изменения: уменьшена масса навески биоматериала до 50,0 г. Это позволило нам уменьшить объемы извлекающих жидкостей, которые были применены для изолирования дельтаметрина из биоматериала.

В колбу вместимостью 500 мл вносили 50,0 г измельченного биоматериала (трупной печени животного происхождения) и 1,0 мл спиртового раствора дельтаметрина, содержавшего 50 мг препарата. Биологический материал и прибавленный к нему препарат оставляли на сутки при периодическом перемешивании. Готовили также контрольную смесь печени с растворителем (этиловым спиртом), которая выступала в роли холостой пробы.

После указанного времени (24 часа) к модельной смеси с исследуемым веществом добавляли 96% этанол до покрытия твердых частиц биообъекта. Смесь биологического материала и спирта подкисляли 10 %-м спиртовым раствором кислоты щавелевой до рН 2-3. После чего оставляли на 24 часа при комнатной температуре постоянно перемешивая. Каждый раз после настаивания биологического материала с подкисленным спиртом проверяли кислотность среды по лакмусу. Если реакция среды окажется нейтральной или щелочной, то смесь снова подкисляли 10% спиртовым раствором кислоты щавелевой до рН 2-3. Через сутки полученное кислое спиртовое извлечение сливали и затем дважды повторяли проведённую до этого операцию.

Полученные кислые спиртовые извлечения (3 порции) объединяли и фильтровали через складчатый фильтр в выпарительную чашку и упаривали на водяной бане (при температуре не выше 40С градусов) до густоты сиропа. К сиропообразной смеси по каплям прибавляли абсолютный этиловый спирт для осаждения примесей белковых соединений и продуктов их разложения. При наличии указанных веществ в вытяжках выпадает осадок или образуется муть. В данных случаях осадок отфильтровывали, фильтр промывали спиртом этиловым, осадок отбрасывали, а фильтрат снова упаривали до густоты сиропа. Операцию осаждения примесей абсолютным этиловым спиртом повторяют до полного удаления из вытяжек белков и других веществ.

К очищенной таким образом сиропообразной жидкости прибавляли 10 мл воды. Если в процессе образовывался осадок, также отфильтровывали. После очистки сиропообразную жидкость доводили дистиллированной водой до 10 мл. Кислое водно-спиртовое извлечение помещали в делительную воронку, затем трижды экстрагировали с новыми порциями эфира по 10 мл. Полученные кислые эфирные слои отделяли, в последующем не исследовали.

Далее оставшееся кислое водно-спиртовое извлечение подщелачивали 25 % - м процентным раствором аммиака до рН=9-10 и трижды экстрагировали хлороформом по 5 мл.

Полученные хлороформные вытяжки из щелочных водных растворов объединяли. При образовании стойких эмульсий применяли центрифугирование (в течение 5 мин. при 5000 об. / мин) для их разрушения, и выпаривали досуха. В сухом остатке определяли наличие дельтаметрина так, как указано в третьей главе работы.

6.1.2 Выделение дельтаметрина по методу А.А. Васильевой

Для изолирования дельтаметрина из биологического материала мы также применили метод А.А. Васильевой, указанный в работе [84, 85]. В данном методе мы использовали указанные выше модификации.

В колбу вместимостью 500 мл вносили 50 г мелкоизмельченного биоматериала (трупную печень животного происхождения), прибавляли 1 мл исследуемого вещества, содержащий 50 мг дельтаметрина, растворенного в

этаноле, содержимое колбы перемешивали и оставляли на сутки при комнатной температуре, периодически перемешивая.

Модельную смесь через сутки заливали двойным объемом дистиллированной воды, затем подкисляли 10% раствором щавелевой кислоты до кислой реакции на лакмус. Смесь биологического материала, препарата и подкисленной воды оставляли на 2 ч.

После этого кислую водную вытяжку сливали и процеживали через марлю. Биологический материал ещё 2 раза настаивали с подкисленной водой. Кислые водные вытяжки объединяли, процеживали через двойной слой марли. Процеженную кислую вытяжку центрифугировали 10 минут (при 5000 об. /мин). Центрифугат переносили в делительную воронку и подщелачивали 25% раствором аммиака до pH 8,0-9,0 и трижды взбалтывали с хлороформом (по 10 мл). Хлороформные вытяжки объединяли, выпаривали досуха. В сухих остатках проводили качественное и количественное определение дельтаметрина.

6.1.3 Выделение дельтаметрина по методу В.П. Крамаренко

Для выделения дельтаметрина из биологического материала нами был использован метод настаивания водой, подкисленной серной кислотой (метод В.П. Крамаренко) [84,85].

50 г печени вносили в стакан вместимостью 250-500 мл, добавляли 1 мл вещества в этаноле и оставляли на сутки при комнатной температуре. По истечении этого времени смесь «биоматериал - препарат» заливали 0,01 М мл раствором кислоты серной до получения слоя жидкости над биологическим материалом (pH 2,5 – 3,0). Содержимое стакана перемешивали стеклянной палочкой и с помощью универсального индикатора проверяли pH среды. Если pH среды превышает 2,5, то к смеси «биологический материал – препарат – подкисленная вода» по каплям добавляли 20% раствор кислоты серной до pH 2,5. Содержимое стакана оставляли на 2 часа, периодически перемешивая.

После полученный раствор из биоматериала сливали и вносили новые порции 10 мл 0,01 М раствора серной кислоты, при этом также перемешивали, контролировали значения pH среды и оставляли на один час при частом взбалтывании.

Затем процеживали через марлю, твердые частицы биологического материала ещё дважды по 1 часу настаивали с новыми порциями 0,01М раствора кислоты серной, доводя pH смеси каждой раз до 2,5.

Кислые водные вытяжки из биологического материала объединяли, центрифугировали, надосадочную жидкость отделяли, насыщали сульфатом аммония и оставляют на 2 часа. Образовавшийся при этом осадок отделяли от вытяжки повторным центрифугированием, pH вытяжки доводили до значения 2,5-3,0 и проводили экстракцию примеси диэтиловым эфиром (3 раза) по 10 мл. К кислым водным вытяжкам осторожно (по каплям) добавляли 20% раствор натрия гидроксида до pH 10-11, а затем дельтаметрин

экстрагировали 3 раза хлороформом (по 5 мл). Затем щелочные хлороформные извлечения отделяли и объединяли.

Полученные хлороформные вытяжки объединяли, профильтровывали и выпаривали досуха. В сухом остатке определяли количество дельтаметрина.

6.2 Выделение дельтаметрина по методу В.К. Шорманова, Е.Н. Чигаревой и О. В. Белоусовой

Так как в ХТА нет определенной методики выделения синтетических пиретроидов, мы также использовали методику известных авторов В.К. Шорманова, О.В. Белоусовой и Е.Н. Чигаревой, для выбора наиболее оптимального условия изолирования дельтаметрина [86, 87].

Предварительно в химических стаканах вместимостью 50 мл каждый готовили модельные смеси дельтаметрина с мелкоизмельчённой печенью из расчёта 25 мг исследуемого вещества в 25 г биологической ткани. Отдельно в такие же стаканы помещали контрольные образцы мелкоизмельчённой ткани печени, заведомо не содержащие рассматриваемое вещество. Стаканы плотно закрывали полиэтиленовой плёнкой и сохраняли приготовленные искусственные смеси, а также контрольные образцы мелкоизмельчённой ткани печени в течение 2 часов при температуре 18-22°C. По истечении указанного времени добавляли диоксан до покрытия твердых частиц биоматериала. Продолжительность каждого настаивания составляла 60 минут.

Диоксановые вытяжки объединили, профильтровали и фильтрат упаривали на водяной бане до густоты сиропа. Сиропообразную смесь разбавляли водой (10мл) и экстрагировали этилацетатом дважды (по 10 мл). Этилацетатные слои объединяли и если в процессе экстракции образовывались стойкие эмульсии, их центрифугировали в течении 5 минут, при 6000 об\мин. В исследуемых экстрактах проводили идентификацию и количественный анализ дельтаметрина.

6.3 Обнаружение дельтаметрина в вытяжках из биологического материала

Для качественного анализа дельтаметрина, выделенного из биологического материала нами были применены следующие методы анализа: осадочные реакций, реакций на функциональные группы, ТСХ и УФ- спектрофотометрия.

Осадительные реакции и реакции на функциональные группы. Для обнаружения дельтаметрина в вытяжках из биологического материала при помощи осадительных реакций и реакций на функциональные группы 5 мл хлороформной вытяжки выпаривали на водяной бане, затем наносили на белые фарфоровые пластинки с углублениями и выпаривали растворитель. С сухими остатками выполняли осадительные реакции (с фосфорномолибденовой кислотой) и реакции на функциональные группы (с нитратом калия, солью диазония, гексацианоферратом натрия). При этом получали

такие же результаты, как и при проведении реакций со стандартным раствором (таблица 13), как было указано в разделе 3.1.3.

Проведенные параллельно осадительные реакции и реакции на функциональные группы с вытяжками, полученными в холостых опытах, показали, что экстрактивные вещества не дают указанных реакций.

Таблица 13 - Результаты обнаружения дельтаметрина, выделенного из биологического материала при помощи осадительных реакций и реакций на функциональные группы

№	Тип реакции	Реактивы	Результаты реакций
1.	Осадительные реакции	Фосфорно-молибденовая кислота	Осадок желтого цвета
2.	Реакции на функциональные группы	Гексацианоферрат натрия (II)	Синего цвета
		Нитрат калия	Желто-оранжевое окрашивание
		2,3,5-трифенилтетразолия	Желтое окрашивание

Тонкослойная хроматография (ТСХ). Хроматографические пластинки (см. раздел 3.2.1) предварительно высушивали и активировали в сушильном шкафу при 110° С в течение 30 мин. На линию старта с помощью стеклянных капилляров наносили три пробы: стандартный раствор дельтаметрина в хлороформе; хлороформную вытяжку из биологического материала с препаратом и хлороформную вытяжку из биоматериала, полученную в контрольном опыте.

Использовали систему растворителей этилацетат: этилацетат - этанол - аммиак (34:4:2). Проявляли пятна при помощи УФ-света и реактива 2,3,5-трифенилтетразолия. Время насыщения камеры - 25 минут. Длина пробега растворителя - 10 см.

Значение Rf дельтаметрина (n=6) составляло 0,61-0,64. При обработке пластинок раствором 2,3,5-трифенилтетразолия дельтаметрин детектировался в виде желтых пятен.

УФ-спектрофотометрия. С хроматографической пластинки скальпелем снимали слой сорбента, что соответствует пятну, на уровне пробы вытяжки из биологического материала. С этого участка слоя сорбента дельтаметрин трижды тщательно элюировали 10 мл хлороформа и

использовали для выявления дельтаметрина методом УФ-спектрофотометрии, как описано в разделе 3.2.2.

Хлороформный элюат фильтровали через складчатый фильтр в выпарительную чашку, выпаривали на водяной бане. УФ-спектр дельтаметрина, выделенного из биологического материала, имел те же полосы поглощения, что и УФ-спектр стандартного хлороформного раствора дельтаметрина ($\lambda_{\text{max}} = 276 \pm 2$ нм). Как раствор сравнения использовали элюат, полученный из сорбента в холостом опыте.

6.4 Количественное определение дельтаметрина в вытяжках из биологического материала

Методика УФ-спектрофотометрического определения дельтаметрина.

Пробу хлороформной и этилацетатной вытяжки (1/2 часть полученной хлороформной вытяжки), полученную одним из выше приведенных методов изолирования (см. раздел 6.1), помещали в фарфоровую чашку, выпаривали на водяной бане (40 °С), сухой остаток растворяли в 10 мл этанола. Анализ вытяжек из биологического материала проводили на спектрофотометре Cary 60 ($\lambda = 276 \pm 2$ нм, толщина кюветы 10 мм) (разд. 4.1).

Расчет количества выделенного вещества из биоматериала мы проводили по формуле:

$$x = \frac{D \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot 1000 \cdot 1000}{l \cdot 100 \cdot V_3}; \quad (6.4)$$

x – количество вещества в пробе, мкг;

D - значение оптической плотности;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ - удельный показатель поглощения;

l- толщина поглощающего слоя, см;

V_2 – общий объем хлороформного извлечения, мл;

V_3 - объем хлороформного извлечения, взятого для количественного определения, мл.

Таблица 14 - Результаты выделения дельтаметрина из биологического материала (модельные смеси печени) спектрофотометрическим методом и их метрологические характеристики (среднее значение 5 измерений)

№	Метод изолирования	Выделено дельтаметрина, %	Метрологические характеристики
1.	А.А. Васильева	20,7	$\bar{X} = 20,72$; $S^2 = 1,08$; $S = 1,04$; $S_{\bar{x}} = 0,46$; $\Delta \bar{X} = \pm 0,28$; $\varepsilon = 1,35$; $\bar{X} \pm \Delta \bar{X} = 20,72 \pm 0,28$

Продолжение таблицы 14

2.	Стас-Отто	34,4	$\bar{X} = 34,44; S^2=0,31; S = 0,55;$ $S_{\bar{x}} = 0,25;$ $\Delta \bar{X} = \pm 0,56; \varepsilon = 1,62;$ $\bar{X} \pm \Delta \bar{X} = 34,44 \pm 0,56$
3.	В.П. Крамаренко	20	$\bar{X} = 20,04; S^2=0,31; S = 0,54;$ $S_{\bar{x}} = 0,22;$ $\Delta \bar{X} = \pm 0,96; \varepsilon = 4,7;$ $\bar{X} \pm \Delta \bar{X} = 20,04 \pm 0,96$
4.	В.К.Шорманов, Е.Н. Чигарева, О. В.Белоусова	31,5	$\bar{X} = 30,8; S^2=0,57; S = 0,75; S_{\bar{x}} = 0,33;$ $\Delta \bar{X} = \pm 0,2; \varepsilon = 0,64;$ $\bar{X} \pm \Delta \bar{X} = 30,8 \pm 0,2$

Результаты проведения оценки пригодности разработанных нами методик количественного определения дельтаметрина, выделенного из биологического материала с помощью общеизвестных методов изолирования указывают на то, что при анализе методом УФ-спектрофотометрии наибольший процент дельтаметрина выделяется методом Стаса-Отто (34,4%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из основных научных направлений современной фармацевтической науки, в частности токсикологической химии, является разработка методов химико-токсикологического анализа токсикологически важных веществ.

В результате проведенных исследований впервые разработаны методики качественного и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биоматериала, имеющие огромное токсикологическое значение.

Для предварительного обнаружения дельтаметрина при проведении химико-токсикологического анализа рекомендованы химические реакции. Предел обнаружения дельтаметрина составляет от 0,2 до 3 мкг.

Для обнаружения дельтаметрина, выделенного из биологического материала, рекомендована методика хроматографии в тонком слое сорбента (пластинки «Силуфол» марки ПТСХ-П-А-УФ) в системе растворителей этилацетат - этанол - аммиак в соотношении 34:4:2. Локализацию зон дельтаметрина обнаруживали в 2,3,5-трифенилтетразолия и УФ-свете. Предел обнаружения составляет 0,2 и 1 мкг соответственно.

Разработаны методики обнаружения дельтаметрина, выделенного из объектов биологического происхождения, с помощью УФ-спектрофотометрии.

Детектирование дельтаметрина проводили при длинах волн 276 нм. Метод УФ-спектрофотометрии также применяли для количественного определения дельтаметрина, выделенного из биоматериала. Расчет количества дельтаметрина проводили с помощью калибровочного графика. Изучены степень экстракции органическими растворителями (хлороформ, диоксан, этилацетат) экстрагирования дельтаметрина. Оптимальным экстрагентом, при котором наблюдается максимальный выход дельтаметрина, является хлороформ.

Была проведена сравнительная оценка методов выделения дельтаметрина из биологического материала с помощью классических методов изолирования, применяемых в химико-токсикологическом анализе (Стас-Отто, А.А. Васильева, В.П. Крамаренко), а также провели изолирование методикой В.К. Шорманова, Е.Н. Чigareвой и О. В. Белоусовой. Установлено, что данные методы позволяют выделить от 20 до 34,4 % препарата из биоматериала. Методом Стаса-Отто выделяется наибольшее количество дельтаметрина 34,4%

ВЫВОДЫ

1. Разработаны чувствительные методики идентификации дельтаметрина с помощью химических и физико – химических методов исследования:

а) проведенные осадительные и цветные реакции могут использоваться в качестве предварительных проб и должны быть подтверждены с помощью физико-химических методов анализа.

б) при обнаружении дельтаметрина с помощью метода ТСХ было установлено, что наиболее эффективное разделение дельтаметрина достигается при использовании системы растворителей: этилацетат - этанол - аммиак (34:4:2). Оптимальный способ детектирования - облучение пластинки УФ – свете при длине 276 нм, с последующей обработкой раствором 2,3,5-трифенилтетразолия.

в) при проведении идентификации дельтаметрина методом УФ-спектрофотометрии наиболее интенсивный максимум поглощения наблюдался при длине волны 276 нм при растворении дельтаметрина в этаноле.

2. Разработаны методики количественного определения дельтаметрина с помощью физико – химических методов исследования:

При исследовании количественного определения дельтаметрина методом УФ-спектрофотометрии, использовали дельтаметрина в растворах с различной концентрацией (10-50 мкг/мл). Уравнение линейной зависимости $y = 0.0216x - 0.062$. Коэффициент корреляции равен 0,99.

3. Изучены наиболее оптимальные условия изолирования дельтаметрина: при изучении условий экстракции для изолирования дельтаметрина наиболее подходящим растворителем является хлороформ.

4. Сравнительная оценка общепринятых методов изолирования (А.А. Васильевой, В.П. Крамаренко, Стас-Отто) дельтаметрина из биоматериала показала, что наибольшее количество выделяется методом Стас-Отто (34,4%).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Исходя из полученных результатов исследования экспериментальные данные качественного и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биоматериала, были разработаны методические рекомендации. В методические рекомендации включены теоретические основы качественного и количественного определения дельтаметрина с применением физико-химических методов анализа.

Разработанные учебно-методические рекомендации по предмету «Токсикологическая химия» в качестве самостоятельной работы студентов (СРС), фармацевтического факультета внедрены в учебный процесс НАО «Медицинский университет Астана» и КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова, г.Алматы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Анучина А.В. Токсичное действие пестицидов на организм человека и животных // Международный студенческий научный вестник. - 2019. - № 1, - С. 10 - 11.
2. Герунова Л.К., Бойко Т.В. Токсикология пестицидов // Научная библиотека. - 2013; - С. 7-8.
3. Кузьмин С.И., Савастенко А.А. Пестициды в Республике Беларусь: инвентаризация, мониторинг, оценка воздействия на окружающую среду // Экология. - 2011; - С. 84.
4. Балан Г.М., Иванова С.И., Юрченко И.В., Сергеев С.Г., Бабич В.А. Клинические проявления, лечение и отдаленные последствия острых отравлений синтетическими пиретроидами // Токсикология пестицидов 2000. № 3, - С. 251.
5. He F., Wang S., Lin L. Clinical manifestations and diagnosis of acute pyrethroid poisoning // Arch. Toxicology —1989. —V. 64. —P. 54—58.
6. Список пестицидов, разрешенных к производству (формуляции), ввозу, хранению, транспортировке, реализации и применению на территории Республики Казахстан на 2022-2031 годы // Приложение к приказу председателя Комитета государственной инспекции в агропромышленном комплексе Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан от 31 мая 2022 года № 87-Н.
7. Приказ Министра сельского хозяйства Республики Казахстан от 27 июня 2023 года № 249 № 32940 «Об утверждении технического регламента о безопасности средств защиты растений (пестицидов).
8. Умбетпаев А.Т. Совершенствование методов контроля оценки негативного воздействия пестицидов на окружающую среду и здоровье населения Казахстана // автореф. дис. - 2010; - С. 2-3.
9. Научный журнал BMC Public Health, - 2020
10. Casida J. E., Durkin K. A. Pesticide Chemical Research in Toxicology // Chemical Research in Toxicology. - 2016; -№30(1), - P. 94–104.
11. Мельников Н. Н., Волков А. И., Короткова О. А. Пестициды и окружающая среда // Химия. – 1977; - С. 28.
12. Yadav I. S., Devi N. L. Pesticides Classification and Its Impact on Human and Environment // Toxicology. - 2017; -P. 140-158.
13. Гар К.А. Химические средства для борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур // Россельхозиздат. - 1970; -С. 58-60.
14. Mohamed A. Hassaan, Ahmed El Nem, Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques // The Egyptian Journal of Aquatic Research. – 2020; №46(3), - P. 2.
15. Недорезков В. Д., Ганиев М.М. Химические средства защиты растений // Лань. – 2021; - С. 211-212.

16. Жадан Т.А., Шевцова О.А., Гайнутдинов А.В. Проблемы и методы анализа пестицидов
17. Дремова В.П. Сравнительная инсектицидная активность некоторых синтетических пиретроидов // Мед. паразитология, паразитарные болезни. - 1979. -№ 4. -С. 50-56.
18. Клисенко М.А. Синтетические пиретроиды: свойства, метаболизм, методы анализа // Гигиена применения, токсикология пестицидов и клиника отравлений. - 1981- С. 67-70.
19. Мельников Н.Н. Пестициды: химия, технология, применение / Химия, 1987. - 678 с.
20. M.Elliot, A.W.Farnhan, N.F.Janes Synthetic insecticide with a new order of activity // Nature.- 1974.-Vol. 248.-P. 710-711.
21. Байзолданов Б.Т. Токсикологическая химия // Эверо, 2021. - с. 34 – 117.
22. Седых А.С. Инсектоакарицидная активность пиретроидных препаратов // Агрохимия. -1987. -№ 2. -С. 125-140.
23. Каган Ю.С. Биохимические эффекты токсического действия синтетических пиретроидов // Гигиена и санитария. -1986. -№ 1. -С. 6-9.
24. Байзалданов Т. Токсикологическая химия // Алматы, Эверо. -2021, - С.131-132.
25. Мельников Н.Н., Новожилов К.В., Белан С.Р., Пылова Т.Н. Справочник по пестицидам // М.: Химия, 1985. - 256 с.
26. Дремова В.П. Пиретрины и синтетические пиретроиды // Мед. паразитология, паразитарные болезни. - 1987. -№ 4. -С. 20-48.
27. Carsten A. The rejection of synthetic pesticides in organic farming has multiple benefits // Article. -2022.
28. Barlow S.M Risk assessment of the use of deltamethrin on bednets for the prevention of malaria // Food and Chemical Toxicology. Vol.39, -2001. - P. 407-422.
29. Нурматов Т.Н., Шек Г.Х. Справочник агронома по защите растений // Кайнар, 1983. - С.59.
30. Bradbury J. E., Forshaw P. J, Gray A.J., Ray D.E. The action of mephenesin and other agents on the effects produced by two neurotoxic pyrethroids in the intact and spinal rat // Neuropharmacology. -1983.-Vol. 22, -P. 907-914.
31. Deltamethrin // World Health Organization (WHO) journal. -2021. – P. 13-15.
32. UNEP. Healthy Environment, Healthy People. Nairobi: United Nations Environmental Programme; 2016.
33. Pham H.C., Navarro-Dalmasure C., Pham H.C. Toxicological studies of deltamethrin // Int. J. Tissue React. -1984.-Vol. 6, - P. 127-133.
34. Mew EJ, Padmanathan P, Konradsen F, Eddleston M. The global burden of fatal self-poisoning with pesticides // systematic review. J Affect Disord. 2017; P. 104.4

35. Ruso L.O. Decamethrin metabolism in rats // J. agric. food.chem.-1978.-Vol. 26.-P. 918-925.
36. Остапенко Ю.Н., Рожков П.Г. Признаки отравления пестицидами и меры первой медицинской помощи // Научный журнал «Защита и карантин растений». -2012. -С. 47.
37. Tadeo J.L., Beatriz A., Perez R.A. Analysis of Pesticides in Food and Environmental Samples // CRC Press. -2019. -С.40
38. Омарова З.М., Османов И.М. Влияние пестицидов на здоровье детей // Журнал «Российский вестник перинатологии и педиатрии». -2010, -С.59-62.
39. Новости ИнформБюро [Электронный ресурс] <https://informburo.kz/novosti/vtoroi-slucai-otravleniya-posle-obrabotki-ot-klopov-v-aktau-postradali-dvoe-vzroslyx-i-troe-detei>. -2023.
40. Новости Sputnik [Электронный ресурс] <https://ru.sputnik.kz/2018/1205/otravlenie-preparat-klopy-mangistau-8360-09-7.html>. -2018.
41. Новости Sputnik [Электронный ресурс] https://ru.sputnik.kz/20181031/rebenok-pedikulez-sredstvo-otravlenie-78630-91.html?_ga=2.62170348.1900621171.1712738352794599296.1712738349. -2018.
42. Дельтаметрин -Женева: ВОЗ, 1992. -111 с.
43. Lub Q. Deltamethrin toxicity // Environmental Research, Vol.170; - 2019, P. 260.
44. Горбачёва Н.А. Методы анализа синтетических пиретроидов // Судебно-мед. экспертиза. -2001. № 6. - С. 33-39.
45. Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. -М., 1994, № 21, -С. 91-101.
46. Мужановский Э.Б. Идентификация некоторых новых пестицидных препаратов биологическом материале // Судебно-мед. экспертиза, - 1998, № 3. -С. 20-22.
47. Шорманов В.К. Химико-токсикологическое определение эсфенвалерата // Судебно-Медицинская Экспертиза. - 2012, №3. –С 38 – 41.
48. Gupta S., Handa S. K., Sharma K. K. New thin-layer chromatographic method for detection of synthetic pyrethroids containing a nitrile group // Analytical Communications, - 1996, №33(7), -P. 239-240.
49. Гиренко Б., Клисенко М.А. Концентрирование и определение микроколичеств синтетических пиретроидов в воздухе // Гигиена и санитария. - 1984- 57с.
50. Юлдашев З.А. Разработка условий анализа пестицида циперметрина методами тонкослойной хроматографии и УФ- спектрофотометрии // Фармацевт. журн.-2004. -№ 3. -С. 40-42.
51. Горбачёва Н.А. Пособие к разработке судебно-химического исследования трупного материала при отравлениях синтетическими пиретроидами // М., 2001. -99 с.

52. Gimenez L. I., Michellod A.M., Jorge M. J., Pila A. N., Bordon A. G., Profeta M. I., Spectrophotometric Determination of the Deltamethrin // Asian Journal of Science and Technology. -2017. –P. 5664-5665.
53. Kazemipour M., Noroozian E., Mohammad S. T. A new second-derivative spectrophotometric method for the determination of permethrin in shampoo // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2002, №30(4) -P.1379–1384.
54. Онищенко Г.Г. Методические указания по определению остаточных количеств дельтаметрина в зеленой массе, семенах и масле рапса газохроматографическим методом // МУК. -2005.
55. Методы лабораторных исследований и испытаний медико-профилактических дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности // Руководство. —М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. –С.615
56. Sherma J. Review of advances in the chromatography of pesticides // Journal of Environmental Science and Health. -2014, №50(5), P. 301–316.
57. Lamiri A., Medvedovici A., David V., Sandra P. Off-Line Coupling Liquid Chromatography and Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry for Ultratrace Determination of Deltamethrin in Mint Oil // Cheln. Analysis (Warsaw). 1999. №44, -P. 12.
58. Остроухова О.К. Идентификация и количественное определение пестицидов в растительных материалах
59. Амелин В.Г., Лаврухин Д.К., Третьяков А.В., Ефремова А.А. Определение полярных пестицидов в воде, овощах и фруктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Вестник Московского университета, Химия. -2012. –С.
60. Haiyue Y. Ultra-high performance liquid chromatography and gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the analysis of 32 pyrethroid pesticides in fruits and vegetables //
61. Tuzimski T., Sherma J. High Performance Liquid Chromatography in Pesticide Residue Analysis // CRC Press. -2020. –P.491-495.
62. Hogendoorn E. A. High-Performance Liquid Chromatography Methods in Pesticide Residue Analysis // Encyclopedia of Analytical Chemistry. -2006, P. 22.
63. Амелин В.Г. Высокоэффективная жидкостная хроматография в идентификации и определении 111 пестицидов в пищевых продуктах, кормах, воде и почве // Журнал аналитической химии. -2016, №71(1). –С. 51-54.
64. Остроухова О.К. Идентификация и количественное определение пестицидов в растительных материалах хроматографическими методами // автореф., -2005, -С. 48-50.
65. Илларионова Е.А., Сыроватский И.П. Химико-токсикологический анализ пестицидов // ИГМУ. -2016, – С.36.

66. Юлдашев З.А. Химико-токсикологическое исследование синтетических пиретроидов // Изд-во Моск. ун-та, 2006. -С.226.
67. Soderlund D. M. Toxicology and Mode of Action of Pyrethroid Insecticides // Handbook of Pesticide Toxicology, -2010. –P. 1665–1686.
68. Thin-layer chromatography Rf values of toxicologically relevant substances on standardized system // Report XVII of DFG Commission for clinical toxicological analysis, -1992. -P. 52.
69. Жебентяев А.И. Токсикологическая химия // Ч.2: учебное пособие. - 2015. –С. 415.
70. Мельникова Н.Б., Жильцова О.Е., Малыгина Д.С., Большакова А.Е., Музыкаина В.М. Установление подлинности лекарственных веществ. Химические реакции и ИК-спектры // Изд-во «ПИМУ». -2020, -С.50.
71. Meyers C.L., Meyers D.J. Thin-Layer Chromatography. Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry // 2008.
72. Poole C. F. Thin-layer chromatography: challenges and opportunities // Journal of Chromatography, -2003, -P.964-966.
73. Dekker M. Handbook of Thin-Layer Chromatography // Chromatographic science series, 2003. Vol. 89, -P. 1005.
74. Santiago M., Strobel S. Thin Layer Chromatography // Laboratory Methods in Enzymology, -2013. –P. 303–324.
75. Cai L. Thin Layer Chromatography // Current Protocols Essential Laboratory Techniques, -2014, Vol.8 (1), -P.18.
76. Кабиров Г.Ф., Кадырова Р.Г., Муллахметов Р.Р. Тонкослойная хроматография экспресс метод анализа химических соединений // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана, -2011. –С.6.
77. Шилова Р.П. Раздельное определение пестицидов методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol» // Журнал Гигиена и санитария, -1974. –С.52-53.
78. Садртдинова Р.Р. Методы определения пестицидов // Проблемы современной науки и образования. -2016, -С.2.
79. Morris R. Spectrophotometry // Current Protocols Essential Laboratory Techniques, -2015. –P. 1-30.
80. Bachmann L. M., Miller W. G. Spectrophotometry // Contemporary Practice in Clinical Chemistry, -2020. –P.120–133.
81. Flanagan R. J., Taylor A. A., Watson D., Whelpton R. Fundamentals of Analytical Toxicology // 2007. –P.97-107.
82. Мужановский Э.Б., Фартушный А.Ф., Сухин А.П. СМЭ, 1998, № 3, с. 20-22

83. Ельчищева Ю.Б. Спектрофотометрические методы анализа // ПГНИУ, 2023.
84. Крамаренко В. П. Токсикологическая химия. - М.: Просвещение, 1995. – 423-465.
85. Дмитриевич И.Н., Пругло Г.Ф., Фёдорова О.В., Комиссаренков А.А. Физико-химические методы анализа // СПб., 2014. – С.39.
86. Белоусова, О. В. Определение дельтаметрина при судебнохимическом исследовании биологического материала // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". – Курск, 2011. – С. 146-152.
87. Шорманов В.К., Чигарёва Е.Н., Белоусова О.В. Способ определения дельтаметрина и лямбда-цигалотрина в биологическом материале // Курск. - 2011.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Наименование предложения для внедрения: Учебно-методические рекомендации «Разработка методик качественного и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биоматериала».

Авторы: Сулейменова Г.М., Шукирбекова А.Б., Хамметова А.Е.

Форма внедрения: в качестве самостоятельной работы студентов (СРС) по дисциплине «Токсикологическая химия».

Эффективность внедрения: Улучшение понимания студентами тем, касающихся методик обнаружения синтетических пиретроидов в различных объектах исследования. Разработанные методики обнаружения и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биологических образцов, практичны, легко доступны и позволят точно идентифицировать случаи острого отравления.

Предложения, замечания учреждения, осуществляющего внедрение: Внедрить методические рекомендации «Разработка методик качественного и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биоматериала» в учебный процесс по дисциплине «Токсикологическая химия» для самостоятельной работы студентов фармацевтического факультета НАО «Медицинский университет Астана», г. Астана.


Ответственный за внедрение и исполнитель: Сулейменова Г.М.

Сроки внедрения: 03.05.2024 г.

Зав. кафедры фармацевтических дисциплин НАО
«Медицинский университет Астана»
д.фарм.н., профессор



Шукирбекова А.Б.

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д. АСФЕНДИЯРОВА»	
	Кафедра фармацевтической и токсикологической химии, фармакогнозии и ботаники	Акт внедрения

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Наименование предложения для внедрения: Учебно-методические рекомендации «Разработка методик качественного и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биоматериала».

Авторы: Сулейменова Г.М., Шукирбекова А.Б., Хамметова А.Е.

Форма внедрения: в качестве самостоятельной работы студентов (СРС) по дисциплине «Токсикологическая химия».

Эффективность внедрения: Улучшение понимания студентами тем, касающихся методик обнаружений синтетических пиретроидов в различных объектах исследования. Разработанные методики обнаружения и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биологических образцов, практичны, легко доступны и позволят точно идентифицировать случаи острого отравления.

Предложения, замечания учреждения, осуществляющего внедрение: внедрить методические рекомендации «Методики качественного и количественного определения дельтаметрина, выделенного из биоматериала» в учебный процесс дисциплине «Токсикологическая химия» для самостоятельной работы студентов ОП «Фармация» Школы фармации НАО КазНМУ имени С.Д. Асфендиярова, г. Алматы.

Ответственный за внедрение и исполнитель: Сулейменова Г.М.

Сроки внедрения: 13.05.2024г.

Рассмотрено и утверждено на заседании кафедры фармацевтической и токсикологической химии, фармакогнозии и ботаники №9/2 от 13.05.2024г.

И.о. зав. кафедры фармацевтической
и токсикологической химии,
фармакогнозии и ботаники, к.х.н., доцент

Ахметова А.Л.
Ахметова А.Л.

