



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **114620** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
B82Y 5/00
G01N 33/00
G01N 31/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

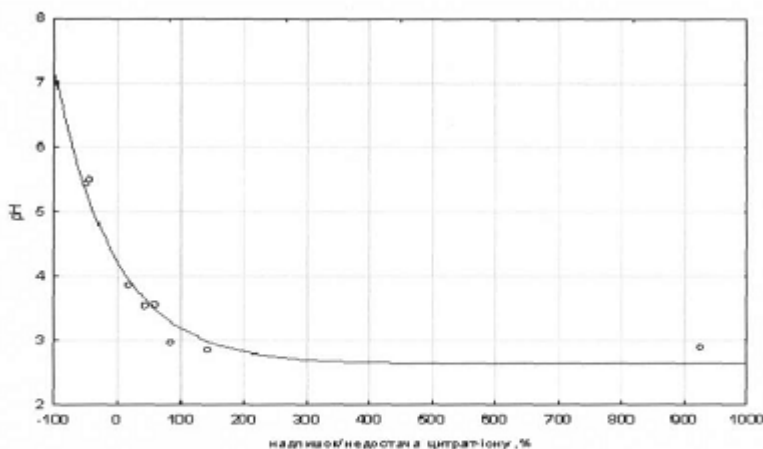
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 10158	(72) Винахідник(и): Сердюк Андрій Михайлович (UA), Гуліч Марія Павлівна (UA), Ємченко Наталія Львівна (UA), Томашевська Людмила Анатоліївна (UA), Харченко Ольга Олегівна (UA), Єрмоленко Валентина Павлівна (UA), Моїсєєнко Ірина Євгеніївна (UA), Антомонов Михайло Юрійович (UA)
(22) Дата подання заявки: 06.10.2016	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.03.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.03.2017, Бюл.№ 5	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ГРОМАДСЬКОГО ЗДОРОВ'Я ІМ. О.М. МАРЗЄЄВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ", вул. Попудренка, 50, м. Київ-94, 02660 (UA)

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ БЕЗПЕКИ ПРОДУКТІВ, ОТРИМАНИХ ЗА ДОПОМОГОЮ АКВАНАНОТЕХНОЛОГІЇ

(57) Реферат:

Спосіб оцінки безпеки продуктів, отриманих за допомогою аквананотехнології, включає визначення гострої токсичності речовин за LD₅₀ та стехіометрії. Додатково вимірюють pH розчинів. Оцінюють величину відхилення вмісту аніонів харчових кислот від розрахункових значень та за допомогою математичної моделі залежності pH розчинів від величини відхилення вмісту аніонів харчових кислот встановлюють наявність чи відсутність у продуктах нанотехнології вільних наночастинок.



Фіг. 1

Математична модель залежності pH розчинів Н-цитрату цинку від надлишку/недостачі цитрат-іону

UA 114620 U

Корисна модель належить до області досліджень матеріалів особливими способами, зокрема визначення дії на живі організми карбоксилатів біометалів, отриманих за допомогою аквананотехнології і їх сумішей.

Відомий спосіб оцінки безпеки продукції, що включає підготовку зразків біосенсорів, досліджуваних і контрольних об'єктів, при цьому включає стадії вибору біосенсора з однієї партії, адаптації його до умов експерименту і витримки одночасно за тотожних умов в тестованому і контрольному об'єктах протягом заданого часу, вимірювання найбільш чутливого параметра (відгуку) до дії на біосенсор компонентів в тестованому об'єкті, знаходження залежності відносного відгуку біосенсора від концентрації компонентів в тестованому об'єкті, визначення коефіцієнта біологічної активності, а потім біологічної активності (токсичності) компонентів в тестованому об'єкті (Патент Росії № 2215291. Способ количественного определения биологической активности (токсичности и стимулирующей способности) тестируемых объектов с использованием биосенсоров. МПК G01N 33/18, G01N 33/24, G01N 33/48. Оpubл. 27.10.2003).

Недоліком способу є трудомісткість, тривалість та висока затратність.

Найбільш близьким за технічною суттю до запропонованого є спосіб оцінки безпеки продуктів нанотехнології, що включає визначення величини гострої токсичності речовин (LD_{50}), а також оцінку їх хімізму, стехіометрії, хімічної чистоти і біодоступності. (Патент на корисну модель № 67535. СПОСІБ ОЦІНКИ БЕЗПЕКИ ПРОДУКТІВ НАНОТЕХНОЛОГІЇ. МПК G01N 33/02, G01N 33/48, G01N 21/00, G01N 31/16. Оpubл. 27.02.2012).

Недоліками способу є трудомісткість та довготривалість досліджень.

В основу створення корисної моделі була поставлена задача підвищення експресності дослідження та спрощення способу.

Задача була вирішено тим, що в способі оцінки безпеки продуктів, отриманих за допомогою аквананотехнології, який включає визначення величини гострої токсичності речовини (LD_{50}) та стехіометрії, згідно із запропонованим рішенням, додатково вимірюють рН розчинів, оцінюють величину відхилення вмісту аніонів харчових кислот від розрахункових значень, будують математичну модель залежності рН розчинів від величини відхилення вмісту аніонів харчових кислот, за допомогою якої встановлюють наявність чи відсутність у продуктах нанотехнології вільних наночастинок (НЧ).

Запропонований спосіб є експресним, малозатратним та не трудомістким, оскільки в подальшому для оцінки відсутності наночастинок у таких продуктах нанотехнології необхідне тільки вимірювання їхнього рН.

Спосіб реалізується наступним чином:

Визначення гострої токсичності речовин за LD_{50} проводили на білих лабораторних мишах та щурах, яким внутрішньошлунково вводили водні розчини карбоксилатів біометалів одноразово в різних дозах. За станом тварин спостерігали 14 діб, реєструючи загибель, їх загальний стан, інтенсивність та характер поведінкових реакцій. На основі цих даних встановлювали дозу LD_{50} , що дозволило класифікувати продукти нанотехнології (карбоксилати біометалів) як мало- та помірно небезпечні речовини.

Для оцінки наявності чи відсутності у продуктах нанотехнології вільних наночастинок вимірювали рН розчинів; розраховували масове співвідношення між катіонами елементу та аніоном карбонової кислоти у звичайному карбоксилаті (отриманому за методом хімічного синтезу); визначали вміст катіону елементу і аніону відповідної кислоти у продуктах нанотехнології, оцінювали їх масове співвідношення та порівнювали його з розрахунком, визначаючи величину відхилення вмісту аніонів харчових кислот від розрахункових значень; будували залежність рН розчинів від величини відхилення (у відсотках) вмісту харчової (карбонової) кислоти. За допомогою отриманої графічної залежності отримали граничні рН продукту, при яких наявність наночастинок виключається.

Приклад 1. В лабораторних умовах проводили визначення гострої токсичності водних розчинів Н-цитратів германію.

Для визначення LD_{50} Н-цитрату германію в гострому експерименті на лабораторних мишах та щурах були вибрані такі дози: 240, 330 і 490 мг/кг. Розрахунок доз проводили виходячи з концентрації робочого розчину та кількості рідини, фізіологічно можливої для тварин даного виду та маси тіла. Величину середньосмертельних доз розраховували за допомогою загально прийнятого методу найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності. Після внутрішньошлункового одноразового введення речовини, протягом 14 діб спостерігали за поведінкою тварин, їх зовнішнім виглядом, станом шерстяного покриву, терміном виникнення та характером інтоксикації і терміном летальності тварин.

Результати визначення гострої дії різних доз Н-цитрату германію на мишей наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Летальність мишей при одноразовому
внутрішньошлунковому введенні мишам Н-цитрату германію

№ п/п	Доза, мг/кг	к-ть тварин у групах, шт	Дні спостережень													кількість загиблих, шт	кількість живих, шт
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
1	контроль	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	240	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
3	330	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	5
4	500	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0

5 При дозі 240 мг/кг тварини почувалися задовільно, поведінкові реакції без особливостей відносно тварин в контрольній групі. Введення мишам Н-цитрату германію дозою 330 мг/кг викликало деяку загальмованість, яка нормалізувалась впродовж години. Поряд з тим, відмічена загибель однієї тварини через добу. Залишилось 5 мишей, які добре почувалися протягом 14 діб спостережень.

10 Від дози Н-цитрату германію 500 мг/кг впродовж доби всі тварини загинули.
Отримані результати гострої токсичності водних розчинів Н-цитрату германію дозволили визначити середньосмертельну дозу для мишей на рівні 400 мг/кг (за пробіт-аналізом).

Визначену дозу LD₅₀ для мишей було перевірено на лабораторних щурах.

15 Час загибелі та летальність щурів при одноразовому внутрішньошлунковому введенні Н-цитрату германію в дозі 400 мг/кг досліджували по тій же схемі, що і в досліді на мишах. Як видно з результатів, представлених в таблиці 2, при досліджуваній дозі 50 %-вий ефект летальності щурів співпадав з таким для мишей.

Таблиця 2

Вплив на щурів Н-цитрату германію в дозі 400 мг/кг

Доза, мг/кг	Кількість тварин, шт.	Дні спостережень													к-ть загиблих	к-ть живих	% загиблих
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13			
400	6	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	50
конт.	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0

20 Після надходження речовини спостерігалась загибель щурів впродовж 1-2 днів. Клінічні симптоми отруєння були аналогічними з клінічною картиною отруєння мишей.

25 Зважаючи на 50 %-ву загибель щурів та однотипні клінічні симптоми гострої інтоксикації можна вважати, що при пероральному надходженні в організм Н-цитрату германію LD₅₀ для щурів і мишей дорівнює 400 мг/кг. За ГОСТ 12.1.007-76 (1990 р.) він відноситься до помірно небезпечних речовин.

Приклад 2. Об'єктом дослідження були зразки водних розчинів цитрату цинку, отримані за аквананотехнологією (Н-цитрати цинку).

30 Визначали рН розчинів, вміст цинку та лимонної кислоти у різних зразках, розраховували їх співвідношення та оцінювали величину відхилення вмісту аніону лимонної кислоти від розрахованого значення. Дані наведено в табл. 3.

Таблиця 3

Залежність рН розчинів Н-цитратів цинку від співвідношення [Zn]:[Cit] та надлишку/недостачі цитрат-іону

рН	Співвідношення [Zn]:[Cit]	Надлишок/недостача цитрат-іону, %
5,45	1:1,49	-49,15
5,51	1:1,66	-43,34
3,86	1:3,43	17,06
3,55	1:4,17	42,30
3,57	1:4,62	57,68
2,98	1:5,42	84,98
2,85	1:7,10	142,32
2,89	1:30,01	924,29

За цими вихідними даними будували математичну модель, представлену на фіг. 1.

- 5 Граничне рН, за якого НЧ у розчині відсутні, визначали при нульовому значенні надлишку кислоти. Тобто для цинку рН розчину, в якому відсутні НЧ, становив 4.1, а інтервал допустимих рН - від 2,6 до 4.1.

Приклад 3. Об'єктом дослідження були зразки водних розчинів цитрату магнію, отримані за допомогою аквананотехнології (Н-цитрати магнію).

- 10 Як і в першому прикладі, у зразках вимірювали рН розчинів, розраховували їх співвідношення та оцінювали величину відхилення вмісту аніону лимонної кислоти від розрахованого значення. Дані наведено в табл. 4. Будували математичну модель, представлену на фіг. 2.

Таблиця 4

Залежність надлишку/недостачі цитрат-іонів від співвідношення [Mg]:[Cit] та надлишку/недостачі цитрат-іону

рН	Співвідношення [Mg]:[Cit]	Надлишок/недостача цитрат-іону, %
5,05	1:6,80	-15,00
4,83	1:7,98	-0,25
4,50	1:8,50	6,25
3,87	1:15,32	91,25

- 15 Модель дозволила визначити оптимальні значення рН для виконання умови відсутності у зразках цитрату магнію НЧ. Оптимальні значення рН в даному випадку становлять від 3,7 до 4,6. За цих умов у розчинах НЧ відсутні.

Приклад 4. Об'єктом дослідження були зразки водних розчинів цитрату германію, отримані за допомогою аквананотехнології (Н-цитрати германію).

- 20 У зразках вимірювали рН розчинів, розраховували їх співвідношення та оцінювали величину відхилення вмісту аніону лимонної кислоти від розрахованого значення. Дані наведено в табл. 5. Будували математичну модель, представлену на фіг. 3.

Таблиця 5

Залежність рН від співвідношення [Ge]:[Cit] та надлишку/недостачі цитрат-іону

рН	Співвідношення [Ge]:[Cit]	Надлишок/недостача цитрат-іону, %
2,0	1:5,95	+11,42
2,5	1:3,00	-43,82
3,0	1:1,39	-74,00
1,5	1:12,55	+137,60

- 25 Граничне рН, при якому в цитраті германію відсутні НЧ становить 2,0, а інтервал безпечного використання цих продуктів нанотехнології: від 1,5 до 2,0.

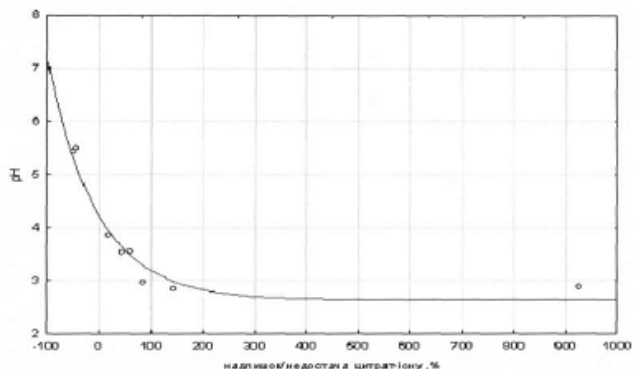
Запропонований спосіб є експресним, малозатратним та нетрудомістким, оскільки в подальшому для оцінки відсутності у таких продуктах нанотехнології наночасток необхідне тільки вимірювання рН розчинів.

5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

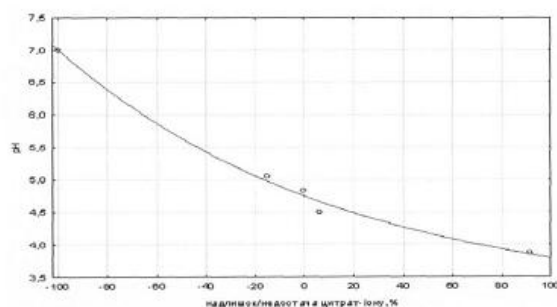
10

Спосіб оцінки безпеки продуктів, отриманих за допомогою аквананотехнології, що включає визначення гострої токсичності речовин за LD_{50} та стехіометрії, який **відрізняється** тим, що додатково вимірюють рН розчинів, оцінюють величину відхилення вмісту аніонів харчових кислот від розрахункових значень та за допомогою математичної моделі залежності рН розчинів від величини відхилення вмісту аніонів харчових кислот встановлюють наявність чи відсутність у продуктах нанотехнології вільних наночастинок.



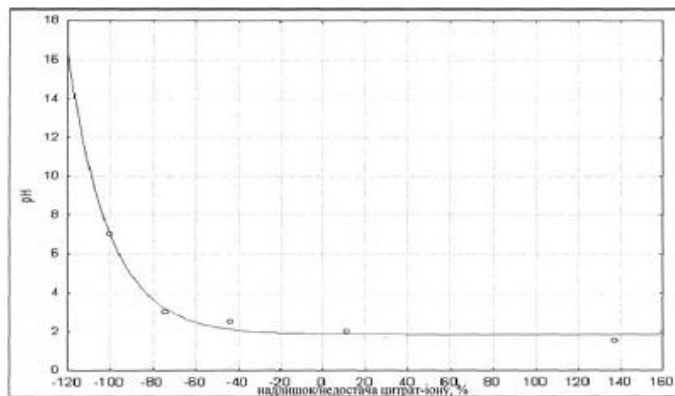
Фіг. 1

Математична модель залежності рН розчинів Н-цитрату цинку від надлишку/недостачі цитрат-іону



Фіг. 2

Математична модель залежності рН розчинів Н-цитрату магнію від надлишку /недостачі цитрат-іону



Фіг. 3

Математична модель залежності рН розчинів Н-цитрату германію від надлишку /недостачі цитрат-іону

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601