



УКРАЇНА

(19) UA (11) 67535 (13) U

(51) МПК (2012.01)

G01N 33/02 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

G01N 21/00

G01N 31/16 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ БЕЗПЕКИ ПРОДУКТІВ НАНОТЕХНОЛОГІЙ

1

2

(21) u201109379

(22) 26.07.2011

(24) 27.02.2012

(46) 27.02.2012, Бюл.№ 4, 2012 р.

(72) СЕРДЮК АНДРІЙ МИХАЙЛОВИЧ, ГУЛІЧ МА-
РІЯ ПАВЛІВНА, ЄМЧЕНКО НАТАЛІЯ ЛЬВІВНА,
ТОМАШЕВСЬКА ЛЮДМИЛА АНАТОЛІЇВНА, БАБІЙ
ВІТАЛІЙ ФІЛІМОНОВИЧ, ХАРЧЕНКО ОЛЬГА ОЛЕ-
ГІВНА, ЄРМОЛЕНКО ВАЛЕНТИНА ПАВЛІВНА,
ЯЩЕНКО ОКСАНА ВЛАДИСЛАВІВНА, МОІСЕЄН-
КО ІРИНА ЄВГЕНІЇВНА(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА ІНСТИТУТ ГІГІЄНИ
ТА МЕДИЧНОЇ ЕКОЛОГІЇ ІМ. О.М. МАРЗЕЄВА
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ(57) Спосіб оцінки безпеки продуктів нанотехноло-
гії, що включає визначення величини гострої ток-
сичності речовин (DL_{50}), який відрізняється тим,
що додатково оцінюють їх хімізм, стехіометрію,
хімічну чистоту та біодоступність і порівнюють їх
відповідно з хімізмом, стехіометрією, хімічною чис-
тотою та біодоступністю аналогічних продуктів,
отриманих класичними методами.

Корисна модель належить до області дослі-
джень матеріалів особливими способами, зокрема
визначення дії на живі організми продуктів нанотех-
нології і їх сумішей.

Відомий спосіб оцінки безпеки продукції, який
характеризується тим, що виявляють чинники ри-
зику продукції з позицій потенційних видів неспри-
ятливої дії для здоров'я людини шляхом визна-
чення технічних характеристик продукції і
встановлення можливих видів небезпеки, пов'яза-
них з вказаними характеристиками, і оцінюють
умови дії цих чинників ризику (Заявка Росії №
2008101258. Спосіб оцінки безпеки продукції
для здоров'я людини і спосіб визначення
інтегрального допустимого ризику окремих клас-
сів і видів продукції для здоров'я людини.
МПК А61В 5/00. Опубл. 20.07.2009).

Недоліком способу є низька достовірність інте-
гральної оцінки негативного впливу продукції на
людину.

Відомий спосіб оцінки безпеки продукції, що
включає підготовку зразків біосенсорів, досліджу-
ваних 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, зна-
ходження залежності відносного відгуку біосенсо-

ра від концентрації компонентів в тестованому
об'єкті, визначення коефіцієнта біологічної актив-
ності, а потім біологічної активності (токсичності)
компонентів в тестованому об'єкті (Патент Росії №
2215291. Спосіб количественного определения
биологической активности (токсичности и стиму-
лирующей способности) тестируемых объектов с
использованием биосенсоров. МПК G01N 33/18,
G01N 33/24, G01N 33/48. Опубл. 27.10.2003).

Основний недолік способу пов'язаний з тим,
що з його допомогою неможливе пряме визначен-
ня сумарної дії токсичних компонентів і знахо-
дження критеріїв дії токсичних речовин на живі
організми.

Найбільш близьким за технічною суттю до за-
пропонованого є спосіб оцінки безпеки продукції,
що включає визначення величини гострої токсич-
ності речовин (DL_{50}) при пероральній дії на живий
організм. Гостру токсичність розраховують за фо-
рмулою залежно від сумарної енергії зв'язків в
молекулі речовин (Патент Росії № 2164684. Спо-
сіб визначення величини острой токсичности
химических веществ по данным энергии связи в
молекуле. МПК G01N 33/00. Опубл. 27.03.2000).

Недоліком способу є низька достовірність оці-
нки негативного впливу речовин на живі організми.

В основу корисної моделі поставлена задача
підвищення достовірності інтегральної оцінки
впливу речовин на живі організми.

(13) U

(11) 67535

(19) UA

Задача була вирішена тим, що в способі оцінки безпеки продуктів нанотехнології, який включає визначення величини гострої токсичності речовин (DL_{50}), згідно із запропонованим рішенням, додатково оцінюють їх хімізм, стехіометрію, хімічну чистоту та біодоступність і порівнюють їх з хімізмом, стехіометрією, хімічною чистотою і біодоступністю аналогічних продуктів, отриманих класичними методами. Це дозволяє підвищити достовірність інтегральної оцінки негативного впливу речовин на живі організми.

Спосіб реалізується наступним чином:

Приклад 1. Визначення стехіометричного складу продуктів. Об'єктом дослідження були розчини цитрату цинку, отримані за нанотехнологією, та сульфат цинку.

За аналог об'єкта прийняли комплексну сполуку $[ZnCit]^-$, яка утворюється при розчиненні цитрату цинку $Zn_3(Cit)_2 \cdot H_2O$ в воді.

Враховуючи те, що розчини цитрату цинку, отримані за нанотехнологією, досить концентровані ($1-20$ г/дм³), для визначення в них цинку вибрано метод комплекснометричного титрування.

Титрування цинку здійснювали етилендіамінтетраоцтовою кислотою (вона ж комплексон, вона ж трилон Б) в присутності металохромних індикаторів.

Визначення лимонної кислоти проводили титруванням за реакцією нейтралізації з фенолфталеїном.

Після визначення вмісту у досліджуваних розчинах цинку і лимонної кислоти можна оцінити їх фактичне вагове співвідношення та співставити його з теоретичною величиною (розрахованою для звичайного отриманого шляхом неорганічного синтезу цитрату цього металу). В такому цитраті цинку вагові співвідношення між цитратом і металом обчислюються як відношення молекулярної маси цитрату і атомної маси цинку та були такими: $190:13:65,37$ або $2,93:1:\approx(3:1)$.

Вміст у розчинах цитрату цинку, отриманих за аквананотехнологією металу (цинку) і цитрату, а також фактичні результати визначення вагових співвідношень компонентів досліджуваних розчинів наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

№ серії	Зразок цитрату цинку	Вміст цинку, г/дм ³	Вміст лимонної кислоти, г/дм ³	Співвідношення компонентів у цитратах
1	Zn ₁	0,84	25,28	1:30,01
	Zn ₂	13,55	73,47	1:5,42
	Zn ₃	11,81	83,80	1:7,10
	Zn ₄	5,40	8,05	1:1,49
2	Zn № 1	2,97	12,395	1:4,17
	Zn № 2	5,60	19,19	1:3,43
	Zn № 3	1,33	6,12	1:4,62

Приклад 2. Оцінка хімізму цитрату цинку, отриманого за нанотехнологією, здійснювалась шляхом дослідження хімічної поведінки його в реакціях, характерних для іонів цинку і цитрат-

іонів у порівнянні з цитратом цинку, отриманим методом хімічного синтезу. Результати представлені в таблицях 2 і 3.

Таблиця 2

Оцінка хімізму цитратів цинку, отриманих за нанотехнологією, та методом хімічного синтезу.

Реакція на цинк (умови проведення)	Результат	
	Для наноцитрату цинку	Для звичайного цитрату цинку
$3NaOH$ 0,1 N	Утворення білого осаду	Утворення білого осаду
$3NH_4OH$ 0,1 N	Розчинення осаду	Розчинення осаду
3 індикатором ЕХЧ, рН 10	Забарвлення розчину в винно-червоний колір	Забарвлення розчину в винно-червоний колір
3 індикатором ПАР рН 6	Забарвлення розчину в оранжевий колір	Забарвлення розчину в оранжевий колір
Титрування комплексом з ЕХЧ	Перехід забарвлення від винно-червоного до синього	Перехід забарвлення від винно-червоного до синього

Таблиця 3

Характерна хімічна поведінка лимонної кислоти	Результат	
	Для наноцитрату цинку	Для звичайного цитрату цинку
Титрування з NaOH1N	3 індикатором фенолфталеїном перехід забарвлення від безбарвного до рожевого	3 індикатором фенолфталеїном перехід забарвлення від безбарвного до рожевого
При хроматографуванні на рідинному хроматографі Agilent Technology-1200 при $\lambda=210$ нм; колонка SB - C 18	Пік лимонної кислоти виходить на 3,4 хв.	Пік лимонної кислоти виходить на 3,2 хв.

Дані таблиць 2 і 3 свідчать про ідентичність хімічної поведінки цитрату цинку, отриманого за нанотехнологією і класичним методом.

Приклад 3. Визначення ступеня чистоти. Для встановлення ступеня чистоти отриманих за нанотехнологією розчинів цитрату цинку (1-а серія) їх висушували при 105 °C і аналізували на вміст домішок методом емісійного спектрального аналізу на спектрографі "ИСП-28". Суху речовину поміщали в кратер графітового електрода діаметром 3,8 мм і глибиною 5 мм і спалювали в активізованій дузі перемінного струму. Час експозиції

- до вигорання проби. Розшифрування спектрів проводили на спектропроекторі ДСП-1 за допомогою атласу спектральних ліній. Як вторинний еталон використовували спектр заліза. Кадмій і свинець визначали в розчинах цитратів, отриманих з допомогою нанотехнології методом інверсійної вольтамперометрії за стандартною схемою.

Результати перераховувались на суху наважку (г/100 г наважки).

Отримані результати наведені в табл. 4.

Таблиця 4

Результати визначення чистоти цитрату цинку, отриманого за нанотехнологією

Виявлені домішки	Вміст домішок (%) в зразках цитрату цинку					
	Zn ₀	Zn ₁	Zn ₂	Zn ₃	Zn ₄	Zn ₅
Силіцій (кремній)	$5 \cdot 10^{-3}$	$\leq 10^{-3}$	10^{-3}	$5 \cdot 10^{-2}$	10^{-2}	10^{-2}
Магній	$\geq 10^{-3}$	$\geq 10^{-3}$	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}
Алюміній	$\leq 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$< 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$< 10^{-3}$
Мідь	$\leq 10^{-3}$	10^{-3}	$> 10^{-3}$	10^{-3}	$5 \cdot 10^{-4}$	-
Залізо	$\leq 10^{-4}$	10^{-4}	10^{-4}	1.0	10^{-4}	-
Кальцій	$\sim 10^{-3}$	$> 10^{-3}$	$\geq 10^{-3}$	10^{-3}	10^{-3}	10^{-3}
Стронцій	$\leq 10^{-4}$	10^{-3}	10^{-3}	10^{-2}	-	-
Титан	-	-	-	$5 \cdot 10^{-2}$	-	-
Марганець	-	-	-	10^{-3}	$< 10^{-4}$	-
Срібло	-	-	-	-	$< 10^{-4}$	10^{-3}
Кадмій	10^{-4}	$< 10^{-3}$	-	-	-	-
Свинець	$1.1 \cdot 10^{-4}$	$2.5 \cdot 10^{-4}$	-	-	-	-
Сумарний вміст домішок	0,0082	0,0101	0,0081	0,01215	0,0177	0,01418
Вміст основної речовини	99.992	99.990	99.991	98.785	99.98	99.986

Із представлених даних можна зробити висновки, що по металах, які визначаються спектральним методом, чистота сухих солей цитрату цинку, отриманих за аквананотехнологією 99,98 %, що відповідає марці о.с.ч. - особливо чистий.

Приклад 4. Визначення токсичності і ступеня накопичення цинку в організмі дослідних тварин. Використовували цитрат цинку, отриманий за нанотехнологією, і неорганічну сполуку цинку - його сульфату (концентрація 3,4 г/дм).

Було проведено визначення гострої токсичності. Мишам внутрішньошлунково вводили "нативні" розчини сульфату цинку і цитрату цинку одноразово в різних дозах. Максимально допустима кількість рідини при одноразовому надходженні в шлунок тварин для мишей масою 25-30 г дорівнює 1 мл, що в перерахунку на дозу складає 220 мг/кг для цитрату цинку і 136 мг/кг для сульфату цинку. Досліджували дозу на рівні 100 мг/кг. За станом тварин спостерігали протягом 14 діб, реєстрували загибель тварин, фіксували загальний стан, інтенсивність та характер поведінкових

реакцій. Отримані дані, наведені в таблиці 5, показали, що доза сульфату цинку і цитрату цинку 100 мг/кг не призводить до загибелі тварин, але в першу добу спостерігається деяка загальмованість і невелика задишка в першій групі (сульфат цинку). При випробуванні більш високих доз ре-

єструвалась загибель тварин впродовж 1-3 днів. Клініка інтоксикації: зниження рухової активності, загальмованість, задишка, сонливість. Розтин загиблих тварин показав здуття шлунка та повнокрів'я печінки, інші органи без змін.

Таблиця 5

Назва речовини	Кількість розчину, мл	Концентрація цинку, мг	Доза, мг/кг	Кількість мишей			
				всього	загиблих	що вижили	% загиблих
Сульфат цинку	1,0	3,4	136	8	5	3	60
	0,6	2,0	100	8	0	8	0
Цитрат цинку	1,0	5,5	220	8	4	4	50
	0,4	2,0	100	8	0	8	0

З даних таблиці видно, що дози 136 мг/кг сульфату цинку і 220 мг/кг цитрату цинку призводять до майже 50 % летального ефекту. Порівнюючи ці дози, можна припустити більш високу токсичність сульфату цинку.

Приклад 5. Для вивчення біодоступності були вибрані органи та тканини, які найбільше накопичують цинк в організмі. Вміст цинку досліджували в печінці, нирках, сім'яниках та кістках піддослідних мишей методом інверсійної вольтамперометрії. Ступінь накопичення цинку при надходженні в організм сульфату та цитрату цинку оцінювали відносно кількості цинку, що міститься в органах контрольних тварин.

Для висновку щодо достовірності відмінностей у вмісті цинку в органах та кістках різних груп мишей визначали коефіцієнти кореляції між двома вибірками. Найменше цинку міститься в нирках і сім'яниках тварин, більше - в печінці, і найбільше - в кістках.

Вміст цинку практично у всіх органах і кістках мишей групи, що отримували сульфат цинку, достовірно не відрізнявся від його вмісту в цих же об'єктах контрольної групи тварин. В той же час вміст цинку в печінці, сім'яниках та кістках дослідних тварин при надходженні його з цитратом цинку достовірно відрізняється як від контрольної групи, так і від групи мишей, що отримувала сульфат цинку. Найбільша різниця в накопиченні цинку з неорганічної та органічної його сполуки мало місце для кісток. Це свідчить про значно більшу біодоступність цитрату цинку в порівнянні з його неорганічною сполукою - сульфатом цинку.

Таким чином, запропонований спосіб дозволяє значно підвищити достовірність інтегральної оцінки негативного впливу речовин, в тому числі продуктів нанотехнології на живі організми.