



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **80667** (13) **U**
(51) МПК (2013.01)
G01N 33/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 13764	(72) Винахідник(и): Куцан Олександр Тихонович (UA), Оробченко Олександр Леонідович (UA), Нємкова Світлана Миколаївна (UA), Доценко Роман Валерійович (UA)
(22) Дата подання заявки: 03.12.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.06.2013	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.06.2013, Бюл.№ 11	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ", вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023 (UA)

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ТАУ-ФЛЮВАЛІНАТУ В МЕДІ ТА БДЖОЛАХ

(57) Реферат:

Спосіб визначення тау-флювалінату в меді та бджолах, що включає екстрагування, осаджування, перерозподіл, випарювання, газохроматографічне визначення залишків пестициду, при якому екстрагування проводять етилацетатом, перерозподіл до гексану проводять без додавання води, доочищення екстракту проводять на хроматографічній колонці розчином гексан:етилацетат у співвідношенні 1:1.

UA 80667 U

Корисна модель належить до токсикології, а саме до визначення залишків синтетичних піретроїдів в біологічних об'єктах.

Визначення тау-флювалінату в бджільництві необхідне при контролі залишкових кількостей піретроїду та діагностиці і профілактиці отруень бджіл.

5 Тау-флювалінат - інсектицид з групи синтетичних піретроїдів контактного та кишкового типу з вираженою акарицидною дією. Пестицид належить до третього класу токсичності при пероральному введенні (ЛД₅₀ для щурів - 261 мг/кг), до токсичних речовин за умов інгаляційного введення (ЛК₅₀ (4 г) для щурів > 560 мг/куб. м повітря) і до малотоксичних речовин при нашірному нанесенні (ЛД₅₀ для кролів > 2000 мг/кг).

10 Відомі методи визначення синтетичних піретроїдів у меді за допомогою газової хроматографії мас-спектрометрії (Albero, B., Sanchez-Brunete, C., & Tadeo, J.L. (2004). Analysis of pesticides in honey by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 52,5828-5835), при виконанні яких собівартість проби втричі вища, ніж в розробленій методиці.

15 На сьогодні немає вітчизняних способів якісного та кількісного визначення залишкових кількостей тау-флювалінату в об'єктах бджільництва.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб визначення тау-флювалінату у ґрунті ("Определение остаточных количеств тау-флювалината в воде и почве методом капиллярной газожидкостной хроматографии. Методические указания. МУК 4.1.2456-09" 20 утверждены 02.02.2009 г. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.) За цим способом проводять екстрагування тау-флювалінату з матриці ацетонітрилом, відокремлення матриці центрифугуванням, фільтрацію крізь паперовий фільтр, перерозподіл до води а потім до гексану, випарювання гексану для перерозподілу до ацетону та аналіз на газорідинному хроматографі.

25 Це рішення може бути прототипом. Але цей спосіб не придатний для визначення піретроїду в продукції бджільництва за рядом причин. При використанні запропонованих екстрагентів відсоток вилучення тау-флювалінату з матриці є низьким (20-30 %). Очищення екстракту за даним способом є недостатнім через те, що продукти бджільництва мають у своєму складі багато різних за хімічним складом речовин, які при екстрагуванні переходять до екстракту та 30 при аналізі на приладі знижують чутливість способу.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб визначення тау-флювалінату в меді та бджолах, що включає екстрагування, осаджування, перерозподіл, випарювання шляхом екстрагування етилацетатом, перерозподіл без додавання води, доочищення екстракту на хроматографічній колонці, щоб забезпечити ефективність способу.

35 Порівняльний аналіз з прототипом дає змогу зробити висновок, що спосіб, який заявляється, відповідає критерію "новизна".

Спосіб виконується таким чином. Проводиться екстрагування піретроїду із проби, що підлягає аналізу, осадження коекстрактивних речовин з водно-етилацетатного розчину центрифугуванням, перерозподіл тау-флювалінату до гексану і доочищення екстракту на 40 хроматографічній колонці. Після цього проводять елювання з колонки та ідентифікацію діючої речовини за допомогою газової хроматографії. Метрологічна характеристика методу не поступається відомим способам, (табл.).

Для дослідження використовують скляну колонку довжиною 1 м заповнену хроматином N-AW-HMDS /0,16-0,20/ з 5 % SE-30. Колонку готують у відповідності до загальної інструкції з 45 газової хроматографії. Нову колонку кондиціонують, не з'єднуючи з детектором, протягом 12-16 годин, при температурі вищій за робочу на 30-40 °С.

Основний стандартний зразок тау-флювалінату з концентрацією 100 мкг/см³ готують розчиняючи 10 мг препарату в 10 см³ ацетону і доводять до мітки гексаном у мірній колбі на 100 см³. Робочі стандартні розчини в гексані з концентраціями: 1 і 10 мкг/см³ готують із основного 50 стандартного зразка. Зберігають стандартні розчини в холодильнику у щільно закупореному посуді, що виключає випарювання органічних компонентів протягом одного місяця.

Приклад

Визначення залишкових кількостей тау-флювалінату в об'єктах бджільництва. Із середньої гомогенізованої проби відбирали наважку: меду - 10 г, бджіл - 5-10 г. Відібрану наважку 55 поміщали в конічну колбу з притертою пробкою і екстрагували 10 см³ води та 30 см³ етилацетату одну годину на апараті для струшування (або залишали на 16-20 годин, періодично перемішуючи). Далі екстракт центрифугували при 2500 об./хв. впродовж 5 хвилин. Надосадову частину відфільтровували через паперовий фільтр в чисту колбу. Залишок і фільтр промивали 5 см³ етилацетату.

Після цього тау-флювалінат реекстрагували в ділильній лійці із водно-етилацетатного розчину гексаном двічі, використовуючи при цьому по 15 см³ екстрагенту. Потім гексановий екстракт концентрували у випарювальній чашці до 0,5 см. Упарений екстракт переносили у приготовлену хроматографічну колонку для додаткового очищення екстракту. При цьому використовували скляну хроматографічну колонку з діаметром 7-8 мм. В нижню звужену частину колонки вводили тампон із білої вати, насипали шар безводного сірчаноокислого натрію - 0,5 см, оксиду алюмінію - 2 см (2 ступінь активності за Брокманом) і шар безводного сірчаноокислого натрію - 0,5 см. Колонку перед внесенням екстракту промивали 5 см³ розчину гексан-етилацетат у співвідношенні 1:1. Після всмоктування аналізованого екстракту проводили елюювання тау-флювалінату: 10 см³ розчину гексан-етилацетат у співвідношенні 1:1.

Наступним етапом способу були ідентифікація та кількісне визначення тау-флювалінату.

Очищений екстракт досліджували за допомогою газової хроматографії. Для ідентифікації тау-флювалінату використовували газовий хроматограф з детектором по захопленню електронів.

Температура випарювача - 270 °С, термостата колонок - 245 °С, термостата детектора - 310 °С. Газ-носії - азот особливої чистоти (або аргон вищої категорії очищення). Швидкість подачі газу на колонку - 30 см³ за хвилину, на продування детектора - 70-100 см³ за хвилину. Робоча шкала електрометра від 5 до 20×10⁻¹² А. У випарювач хроматографа вводили 1-4 мкл стандартного або дослідного розчину. Час утримування тау-флювалінату - 5,3 хв. Мінімально детектована кількість тау-флювалінату - 2,0 нг. Якісну ідентифікацію тау-флювалінату здійснювали за часом утримання. Кількісне визначення у пробі проводили методом порівнювання висоти або площі піка стандартного і дослідного розчину. Математичні розрахунки проводили за формулою:

$$X = \frac{U_{\text{пр}}(\text{мл}) \times C_{\text{т}}(\text{нг}) \times H_{\text{пр}} \times 100}{U_{\text{р}} - n(\text{мкл}) \times H_{\text{ст}} \times M(\text{г}) \times K}$$

Де: X - кількість пестициду в пробі в мг на кг;

U_{пр}(мл) - об'єм екстракту в см³;

C_т(нг) - кількість пестициду в нг введена у випарювач хроматографа зі стандартним розчином;

H_{пр} - висота піка аналізованої проби в см;

U_р - n(мкл) - кількість екстракту введеного в хроматограф в мкл;

H_{ст} - висота піка стандарту в см;

M(г) - маса проби, взятої для екстракції (в г або см³);

100 - коефіцієнт для внесення поправки на втрати пестициду при K екстракції і підготовки проби для дослідження, де

K - визначуваність препарату в % (тау-флювалінат - 60 %).

Таким чином, спосіб визначення Тау-флювалінату в об'єктах бджільництва є ефективним, та не трудомістким. Його використання спрощує процедуру аналізу та підвищує точність визначення тау-флювалінату при меншому часі екстракції та кращому очищенні екстракту. Спосіб може використовуватись в лабораторіях безпеки та якості продукції при вивченні залишкових кількостей Тау-флювалінату в об'єктах бджільництва та при діагностиці отруєнь піретоїдами.

Таблиця

Спосіб визначення тау-флювалінату в меді та бджолах

Статистичні показники	об'єкти, що аналізували	
	мед	бджоли
Межа визначення, мг/кг	0,01	0,05
K-сть паралельних проб	5	5
Розмах варіювання, %	55-65	47-60
M±m, %	60,28±1,72	54,48±2,13

Продовження таблиці

Стандартне відхилення, %	3,8	4,77
Медіана, %	60	54

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб визначення тау-флювалінату в меді та бджолах, що включає екстрагування, осаджування, перерозподіл, випарювання, газохроматографічне визначення залишків пестициду, який **відрізняється** тим, що екстрагування проводять етилацетатом, перерозподіл до гексану проводять без додавання води, доочищення екстракту проводять на хроматографічній колонці розчином гексан:етилацетат у співвідношенні 1:1.

 Комп'ютерна верстка І. Мироненко

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

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