

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**Кафедра хімії**

**Кваліфікаційна робота / проект  
магістра**

на тему: ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ПЕСТИЦИДІВ У  
СУДОВО-МЕДИЧНІЙ ПРАКТИЦІ

Виконала : студентка 2 курсу, групи 8.1028-з

спеціальності 102 «Хімія»

освітньої програми 102 «Хімія»

Пуховська І. М.

Керівник доцент, доцент, к.фарм.н. Панасенко Т. В.

Рецензент доцент, доцент, к.хім.н. Луганська О.В.

Запоріжжя

2020

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Біологічний факультет  
Кафедра хімії  
Освітньо-кваліфікаційний рівень магістр  
Спеціальність 102 Хімія  
Освітньо-професійна програма «Хімія»

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

зав. кафедрою проф. О.А. Бражко

\_\_\_\_\_

« 26 » квітня \_\_\_\_\_ 2019 р.

**ЗАВДАННЯ**  
**НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ**

Пуховській Ірині Миколаївні

1. Тема роботи Ідентифікація та кількісне визначення пестицидів у судово-медичній практиці,

керівник роботи Панасенко Тамара Володимирівна, доцент, к.фарм.н.

затверджені наказом ЗНУ від «25» травня 2019 р. № 772-с \_\_\_\_\_

2. Строк подання студентом роботи 28 грудня 2019 р.

3. Вихідні дані до роботи: літературний огляд щодо газорідинної хроматографії та обладнання для виконання даного методу аналізу.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): провести аналіз біологічних рідин людей, що отруїлися пестицидами, використовуючи газорідинну хроматографію; провести статистичну обробку отриманих результатів.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень):

10 \_\_\_\_\_ рисуноків, \_\_\_\_\_ 9  
таблиць \_\_\_\_\_

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Консультант	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
4	Карпенко Ю.В., к.х.н. викладач		

7. Дата видачі

завдання 15.10.2019р.

### КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ п/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1	Пошук літератури за темою кваліфікаційної роботи	жовтень – грудень 2018	Виконано
2	Вивчення, засвоєння методик дослідження. Написання відповідного розділу роботи	січень – лютий 2019	Виконано
3	Засвоєння правил техніки безпеки під час виконання експериментальної частини. Написання відповідного розділу роботи	березень – квітень 2019	Виконано
4	Проведення експериментальних досліджень. Оформлення результатів експерименту (таблиці, рисунки). Написання відповідного розділу роботи	травень, червень, вересень 2019	Виконано
5	Оформлення кваліфікаційної роботи	жовтень – грудень 2019	Виконано
6	Рецензування та захист кваліфікаційної роботи	грудень 2019	Виконано

Студент \_\_\_\_\_ І. М. Пуховська

Керівник роботи \_\_\_\_\_ Т. В. Панасенко

**Нормоконтроль пройдено**

Нормоконтроль пройдено

\_\_\_\_\_ Ю. В. Карпенко

## РЕФЕРАТ

В роботі 60 сторінок, 9 таблиць, 10 рисунків, було використано 42 літературних джерела, з них 9 іноземною мовою.

Об'єкт дослідження – пестициди, фосфаті у біологічних рідинах людей, які постраждали від отруєння.

Предмет дослідження – тонкошарова, газорідинна, високоефективна рідинна хроматографія.

Метою даної роботи є ідентифікація та кількісне визначення пестицидів у біологічних рідинах людей, які постраждали від отруєння.

Методи дослідження та апаратура: колби мірні 25,50,100мл; колби 250мл; стакан хімічний ємністю 50мл; піпетки мірні ГОСТ 2029-74 об'ємом 1,2,5,10мл; мікропіпетки ТУ У 33.1-14307481-037:2007 об'ємом 0,1мл, 0,2мл; пробірки центрифужні, чашки випарювальні, газовий хроматограф Кристал 2000 з ТІД-хроматон N-AW-DMCS +5% SE-30 при використанні ДЕЗ (детектора електронного захоплення); застосовувалися методи тонкошарової газорідинної хроматографії для ідентифікації та кількісного пестицидів у біологічних рідинах людей, які постраждали від отруєння.

Реактиви: ДСЗ фосфамід® (Україна М00141.10), хлороформ хч (SCIENCompanі Франція), гексан хч (Німеччина), ацетон хч (ГОСТ 2603).

Були проведені дослідження з ідентифікації та визначення вмісту пестициду - фосфаміду® у біологічних рідинах згідно МУ 4323-87 з використанням методу газорідинної хроматографії.

За допомогою методів статистичної обробки було показано чутливість методу газорідинної хроматографії для різних біологічних рідин.

**ФОСФАМІД, ПЕСТИЦИДИ, БІОЛОГІЧНІ РІДИНИ, ТОНКОШАРОВА ХРОМАТОГРАФІЯ, ВИСОКОЕФЕКТИВНА РІДИННА ХРОМАТОГРАФІЯ, ГАЗОРІДИННА ХРОМАТОГРАФІЯ, ЧУТЛИВІСТЬ**

## SUMMARYREPORT

The work is of 60 pages, 9 tables, 5 pictures, amongst 42 used literary sources 9 were written in a foreign language.

Subject of the research is identification and content of pesticides in biological fluids.

Goal of the work is identification and quantitative estimation of pesticides in biological fluids of humans with the use of gas-liquid chromatography.

Method of examination and instrumentation: calibrated flasks of 25, 50, 100 ml; calibrated flasks of 250 ml; bunsen beaker of 50 ml; measuring pipettes of ГОСТ 2029-74 of 1, 2, 5, 10 ml; micropipettes ТУУ 33.1-14307481-037: 2007 of 0,1 ml, 0,2 ml; centrifugal tubes, evaporation cups, gas chromatograph Crystal 2000 with thermionic detector-chromatone N-AW-DMCS + 5% SE-30 with the use of ECD (electron capture detector); gas-liquid chromatography method was applied for identification and quantitative estimation of pesticides in biological fluids of humans suffered from intoxication.

Chemical reagents: SSRS (state standard reference sample) phosphamide (Ukraine M00141.10), chloroform – «purissimum» (SCIENCompani, France), hexane – «purissimum» (Germany), dimethyl ketone – «purissimum» (ГОСТ 2603).

Researches were conducted for identification and determination of pesticide content in biological fluids pursuant to MY 4323-87 with application of gas-liquid chromatography method.

With the use of statistical processing methods the gas-liquid chromatography method sensitivity for different biological fluids was shown.

PHOSPHAMIDE, PESTICIDES, BIOLOGICAL FLUIDS, THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY, HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY, GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY, SENSIBILITY.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	7
ВСТУП.....	8
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	10
1.1 Проблеми патології гострих отруєнь.....	10
1.2 Характеристика хімічної природи отрутохімікатів.....	12
1.2.1 Класифікація пестицидів за хімічною природою, за призначенням, за ступенем токсичності.....	12
1.3 Якісні реакції на деякі пестициди.....	15
1.4 Вплив пестицидів на здоров'я людини.....	16
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	21
2.1 Метод хроматографії в тонких шарах сорбенту.....	21
2.2 Метод газової хроматографії.....	25
2.4 Високоєфективна рідинна хроматографія.....	29
2.5 Методи статистичної обробки.....	31
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	35
3.1 Ідентифікація пестицидів методом ТШХ.....	36
3.2 Визначення «Фосфаміду®» методом газорідинної хроматографії.....	37
3.3 Обчислення результатів досліджень.....	39
3.4 Статистична обробка отриманих даних.....	41
3.5 Обговорення отриманих результатів досліджень.....	43
4 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ...	45
ВИСНОВКИ.....	51
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	52
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ.....	54
ДОДАТКИ.....	58

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,  
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АТ – артеріальний тиск

БФС – бромфеноловий синій

ГДК – гранично допустимі концентрації

ДЗК – допустима залишкова кількість

кол/с – коливань за секунду

КМІО – коефіцієнт можливого інгаляційного отруєння

мкВ - мікровольт

мкг – мікрограм

мм – міліметр

мм.рт.ст – міліметрів ртутного стовпчика

нм – нанометр

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ВЕЖХ – високоефективна рідинна хроматографія

LD<sub>50</sub> – летальна доза

УФ – ультрафіолет

ФОС – фосфорорганічні сполуки

хв. – хвилина

ЧД – частота дихання

$\alpha$  – довірча ймовірність

$\xi$  – тестова статистика

S – стандартне відхилення

T<sub>кип</sub> – температура кипіння

t<sub>α</sub> – коефіцієнт Стьюдента

t<sub>R</sub> – час утримання речовини

$\bar{x}$  – середнє значення

% - відсоток

## ВСТУП

Актуальною медичною проблемою нашого часу стало вивчення й хіміко-токсикологічне дослідження патологічного стану, щодо отруень пестицидами. Не дивлячись на цінні властивості отрутохімікатів як засобів хімічного захисту рослин і тварин від різних шкідників, ці засоби мають шкідливий вплив на людей та тварин. Беручи до уваги токсичність отрутохімікатів, вони стали об'єктами судово-хімічного аналізу.

В області судово-токсикологічних досліджень широко використовуються різноманітні хроматографічні методи аналізу. Жоден з аналітичних методів не може конкурувати з хроматографією за універсальністю застосування та ефективністю розділення складних багатокомпонентних сумішей. Останнім часом в світі спостерігається тенденція до використання високоефективної рідинної хроматографії, хроматографії в тонких шарах сорбенту та газової хроматографії.

Найновішими хроматографічними методами можна визначати газоподібні, рідкі та тверді речовини з молекулярною масою від одиниці до  $10^6$ . Це можуть бути ізотопи гідрогену, іони металів, синтетичні полімери, білки тощо. За допомогою хроматографії отримано обширну інформацію про будову і властивості органічних сполук багатьох класів. Застосування хроматографічних методів для розділення білків дуже вплинуло на розвиток сучасної біохімії.

В сучасній судовій токсикології досить актуальними є дослідження вмісту залишкових кількостей пестицидів в харчових продуктах, ґрунті, біологічних рідинах людей та інших природних об'єктах, що потребує високої чутливості аналітичних методик якою і є газорідинна хроматографія.

Об'єкт дослідження – пестициди, фосфати у біологічних рідинах людей, які постраждали від отруєння.

Предмет дослідження: тонкошарова, високоефективна рідинна хроматографія, газорідинна хроматографія з використанням ДЕЗ.



Мета даної роботи – ідентифікація та кількісне визначення пестициду методом газорідинної хроматографії.

Для виконання мети поставлені такі завдання:

- 1) провести огляд літературних джерел, щодо методів дослідження пестицидів у біологічних рідинах;
- 2) методом газорідинної хроматографії ідентифікувати пестициди у біологічних рідинах людей, що постраждали від отруєння;
- 3) визначити кількісний вміст пестициду – «Фосфамід®» в біологічних рідинах людей;
- 4) встановити технічні умови хроматографічного аналізу;
- 5) провести статистичну обробку результатів дослідження для виявлення достовірності аналізів.

За матеріалами проведених досліджень опубліковані тези «Ідентифікація пестицидів у судово-медичній практиці» (X міжнародна наукова конференція студентів та молодих науковців «Шевченківська весна 2012: біологічні науки що проходила 7-9 квітня 2012 р.), стаття в міжнародному виданні Natural and Technical Sciences «Ідентифікація та кількісне визначення пестицидів у судово-медичній практиці» липень 2019р.

Участь у міжнародній науковій конференції з природничих наук «Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences, VII(24), Issue: 200, 2019 Jul.

## 1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1 Проблеми патології гострих отруень

Хімічні сполуки відносяться до постійно діючих на організм людини факторів зовнішнього середовища. Між зовнішнім хімічним оточенням і хімічним складом організму існує певна рівновага, порушення якої призводить до патологічного зрушення гомеостазу.

Особливу актуальність гострі та хронічні отруєння придбали в останні десятиліття внаслідок накопичення в навколишньому середовищі величезної кількості різних хімічних препаратів - більше 5 млн найменувань. Близько 60 тис. препаратів використовується безпосередньо в побуті у вигляді харчових добавок, лікарських засобів, пестицидів, препаратів побутової хімії, косметичних засобів та ін. [1].

Причини гострих отруень можна розділити на дві основні категорії : суб'єктивні, що безпосередньо залежать від поведінки потерпілого, і об'єктивні, викликані конкретною «токсичною ситуацією».

В останні роки відзначається зростання смертельних отруень алкоголем і його сурогатами, а також пестицидами .

Таким чином, гострі отруєння ставлять перед охороною здоров'я ряд складних завдань, пов'язаних з необхідністю широкого інформування лікарів про токсичні властивості різних хімічних препаратів і нових ефективних методів лікування хімічних хвороб, необхідно подальше поліпшення медичної допомоги при даній патології, що вимагає спеціальної підготовки медичного персоналу.

Для вивчення взаємодії отрути з організмом важливе розуміння процесів токсикодинаміки і токсикокінетики отрути. Токсикодинаміка відображає вплив отрути на різні структури і функції організму, механізми його специфічної дії і «виборчої токсичності», тобто здатності пошкоджувати певні клітини або структури і порушувати їх функції.

Токсікокінетика характеризує шляхи надходження та розподілу отрути, його біотрансформацію та виведення з організму.

Розподіл токсичних речовин в організмі залежить від трьох основних чинників: просторового, тимчасового і концентраційного. Просторовий фактор визначає шляхи надходження та розповсюдження отрути, що пов'язано з кровопостачанням органів і тканин, оскільки кількість отрути, що надходить до органу, залежить від його об'ємного кровотоку, віднесеного до одиниці маси тканин. Найбільша кількість отрути в одиницю часу зазвичай надходить у легені, нирки, печінка, серце, мозок, при цьому відзначається невідповідність між кровотоком і токсичним ураженням органів. При інгаляційних отруєннях основна частина отрути надходить у нирки, а при пероральних - у печінку. Токсичний процес визначається не тільки кількістю отрути, що накопичився в тканинах, але і чутливістю до нього рецепторів «виборчої токсичності». Особливо небезпечні токсичні речовини, що викликають незворотні зміни клітинних структур.

Під тимчасовим чинником мається на увазі швидкість потрапляння отрути в організм і його виведення, тобто він відбиває зв'язок між часом дії отрути та його токсичним ефектом.

Концентраційний фактор визначається концентрацією отрути в біологічних середовищах, зокрема в крові. Вивчення концентрації отрути дозволяє визначити токсикогенну і соматогенну стадії отруєння і коригувати лікування. Дослідження концентрації отрути в часі дозволяє визначити період резорбції, досягнення максимальної концентрації токсичної речовини в крові, і період елімінації, виведення отрути з організму до повного очищення.

З точки зору токсикодинаміки специфічна симптоматика отруєнь, що відображає «виборчу токсичність» отрути, найбільш яскраво проявляється в токсикогенній фазі, особливо в періоді резорбції, для якого характерний початковий розвиток патологічних синдромів гострих отруєнь, таких як екзотоксичний шок, токсична кома, шлунково-кишкові кровотечі, асфіксія. У соматогенній фазі отруєнь зазвичай розвиваються синдроми, позбавлені

токсикологічної специфічності, трактуються як ускладнення гострих отруєнь - пневмонія, гостра ниркова (ГНН) або печінково-ниркова недостатність, сепсис та ін.

## 1.2 Характеристика хімічної природи отрутохімікатів

В залежності від хімічного складу органічні отрутохімікати розділяються на ряд груп, до числа яких належать : органічні сполук фосфору, хлору, похідних амінів, фенолів, карбонових кислот, карбаміду, тіокарбаміду, металоорганічних сполук та інші. В теперішній час існує декілька класифікацій отрутохімікатів .

### 1.2.1 Класифікації пестицидів за хімічною природою, за призначенням, за ступенем токсичності

За хімічною структурою розрізняють пестициди: хлорорганічні, ФОС, ртутьорганічні, миш'яковмісні, похідні мочевины, ціаністі сполуки, похідні карбомінової, тіо- і дитіокарбомінової кислот, препарати Купруму, похідні фенолу, Сульфур та її похідних.

Хлорорганічні (гексахлоран, хлоридан, поліхлорпінен та інші) в складі яких присутні атоми хлору. Ці сполуки характеризуються токсичною дією на клітинні елементи внутрішніх органів. В результаті чого порушується робота всіх внутрішніх органів. Смерть може настати через кілька годин після впливу речовин на людину на фоні явлення токсичного енцефаліту.

ФОС (тіофос, карбофос, меркаптофос, хлорофос та інші) – які вміщують у своєму складі фосфор. Вони пригнічують дію ферменту холінестерази, тим самим порушують процеси передачі нервових імпульсів

через сполучні елементи нервових волокон. Порушення іннервації внутрішніх органів, які призводять до порушення їх функцій. Смерть від дії ФОС настає наприкінці першої доби після отруєння. Купрумовмісні сполуки (купрум(II) сульфат, бордовська рідина та інші) при контакті з тканинами виявляють пропалюючу дію. В результаті їх дії на внутрішніх органах розвиваються дистрофічні зміни смерть настає на 3-4 добу [2]. Структурні ФОСмули деяких пестицидів вказані на рис. 1.1 [3].

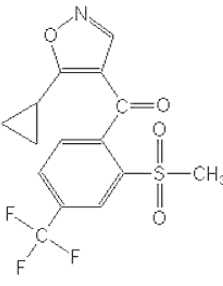
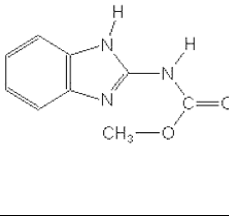
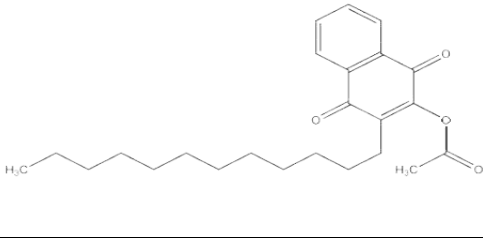
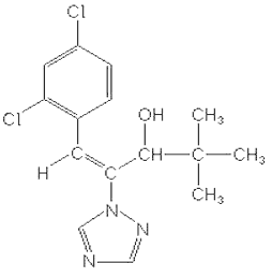
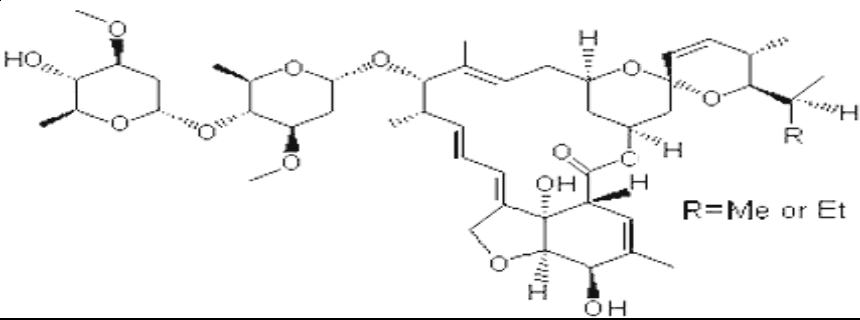
		
«Ізоксафлютол®»	«Карбендазіну®»	«Ацеквіноціл®»
		
«Дініконазол®»	«Абамектін®»	

Рисунок 1.1 - Структурні ФОСмули пестицидів

В залежності від призначення отрутохімікати розділяються на декілька груп, коротка характеристика деяких з них наводиться нижче.

- 1) Акарициди – для боротьби з кліщами
- 2) Альгіциди – для знищення водоростей та інших представників водної рослинності.
- 3) Арборициди – для знищення небажаної деревинної та чагарникової рослинності.
- 4) Бактерициди – для боротьби з бактеріями і бактеріальними хворобами.
- 5) Гербіциди – для боротьби з сорними рослинами.

- 6) Зооциди (родентициди) – для боротьби з гризунами.
- 7) Інсектициди – для знищення шкідливих комах.
- 8) Лімбацити(моллюскоциди) – для боротьби з молюсками.
- 9) Нематоциди – для боротьби з круглими червами (нематодами).
- 10) Фунгіциди – для боротьби з хворобами рослин.

До числа отрутохімікатів відносяться і інші речовини, що використовуються для стимуляції росту рослин, видалення листя(дефоліанти), для підсушування рослин перед збиранням врожаю(десиканти), а також ті що використовуються для відлякування комах(репеленти) чи для їх приваблювання(атрактанти) [4].

За ступенем токсичності пестициди поділяють на:

- 1) Надмірно токсичні.
- 2) Високотоксичні.
- 3) Помірно токсичні.
- 4) Малотоксичні [4].

Показники, що встановлюють норми для класу небезпечності вказані у табл. 1.1

Таблиця 1.1 – Показник и норм класу небезпечності [5].

Найменування показників	Норма для класу небезпечності			
	1	2	3	4
ГДК шкідливих речовин у повітрі робочої зони (мг/м <sup>3</sup> )	Менше 0,1	Від 0,1 до 1,0	Від 1,1 до 10,0	Більше 10
Середня смертельна доза при введенні в шлунок (мг/кг)	Менше 15	Від 15 до 150	Від 151 до 5000	Більше 5000
Середня смертельна доза при нанесенні на шкіру (мг/м <sup>3</sup> )	Менше 100	Від 100 до 500	Від 501 до 2500	Більше 2500

Продовження табл. 1.1

Середня смертельна концентрація повітрі (мг/м <sup>3</sup> ) у	Менше 500	Від 500 до 5000	Від 5001 до 50000	Більше 50000
КМІО	Більше 300	Від 300 до 30	Від 29 до 3	Менше 3
Зона гострої дії	Менше 6,0	Від 6,0 до 18,0	Від 18,1 до 54,0	Більше 54
Зона хронічної дії	Більше 10,0	Від 10,5 до 5,0	Від 4,9 до 2,5	Менше 2,5

Лімітуючими факторами при віднесенні хімічної речовини до тієї чи іншої групи токсичності є величина середньо смертельних доз при введенні препарату у шлунок, нанесення його на шкіру та середня смертельна концентрація у повітрі. Крім того до уваги береться ГДК в повітрі робочої зони, коефіцієнт можливого інгаляційного отруєння (КМІО), який являє собою відношення збагачуючої концентрації речовини у повітрі робочої зони при 20°C до суднової смертельної концентрації цієї речовини у повітрі. Зона гострої дії (зона акута) є відношенням величини LD<sub>50</sub> до величини порогової дози при одноразовій дії. Зона хронічної дії також відносна величина, яка визначається відношенням величини порогової дози при одноразовому введенні до багаторазової, яка визначається в хронічній дії [6,7].

### 1.3 Якісні реакції на деякі пестициди

В судово-хімічній діагностиці відсутні данні про уніфіковані методики аналізу нових пестицидних препаратів. Були проведені кольорові реакції та ідентифіковані деякі нові пестициди. Реакції проводилися з наступними реактивами : реактив Драгендорфа, реактив Маркі, концентрована сульфатна

кислота, 1% *n*-ДАБА в концентрованій сірчаній кислоті, натрій періодат в сульфатній кислоті, *o*-діанізидин, реактив Манделіна. Результати проведених реакцій надані у табл. 1.2.

Таблиця 1.2 – Кольорові реакції на деякі нові пестицидні препарати

Пестицид	У Ф	Реактив Драгендорфа	Реактив Мржі	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> конц.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> конц. уф	Диазотування	Диазотування після нігрування	1% <i>n</i> -ДАБА в H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Натрію періодат в H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	<i>O</i> -діанізидин	Реактив Манделіна
Арриво	Б	О	В	Ж	З	-	Ч	Ж	В	Кор	З
Арцерид	-	О	-	Ч	-	О	В	Кор.	Кор.	О	Кор
Біфетрин	-	-	Ч	-	З	-	М	-	-	-	-
Дельтацид	-	-	В	-	-	З	Ж	-	-	-	-
Децис	Б	О	О	-	З	-	Ч	В	Кор.	-	Кор
Коба	Б	В	З	Ж	-	-	-	-	-	Кор	-
Карате		О	В	-	З	-	О	Ж	В	Кор	Кор
Лактерин	Б	О	В	О	З	-	Ч	-	О	-	Кор
Неоцид	Б	О	-	-	Б	Ж	Ж	-	Кор.	О	-
Орадельт	З	-	-	-	-	-	Р	-	-	-	-
Педицид	Б	-	-	-	-	-	В	О	Кор..	Ж	-
Рапан	Б	-	-	-	-	-	Ф	-	-	Ф	З
Фенаксин	-	-	-	-	-	-	С	Кор.	-	-	-
Фундузол	Б	-	-	-	Б	-	Ч	Кор.	-	-	Кор

Примітка : Б-блакитний, О-оранжевий, В-вишневий, Ж-жовтий, З-зелений, Ч-червоний, Кор.-коричневий, С-синій, Ф-фіолетовий, Р-рожевий [16].



#### 1.4 Вплив пестицидів на здоров'я людини

В теперішній час відомо тисячі найменувань пестицидів та їх препаратів.

Найбільше судово-медичне значення з таких речовин мають ФОС та хлорорганічні сполуки.

ФОС є високомолекулярні ефіри кислот фосфору і їх сульфур і нітрогеновмісних похідних : тіофосфорної (тіофос, метафос та ін.) дітіофосфорної (карбофос, фосфамід та ін.), алколофосфорної (хрофос) та ін. [8].

ФОС можуть надходити в організм через рот, шкіру, дихальні шляхи. При надходженні через рот всмоктування починається вже в порожнині рота і продовжується в шлунку і тонкому кишечнику. Препарати швидко проникають в кровоток, через гематопаренхіматозний і гематоенцефалічний бар'єри в усі органи і тканини, де розподіляються одномірно. Більш високі концентрації препаратів можуть визначатися в нирках, печінці, легенях, кишечнику. Інші закономірності спостерігаються при розподілі іонізованих ФОС, в молекулі яких є позитивно заряджені атоми сірки та азоту. Ці сполуки погано проникають через поляризовані біологічні мембрани, і зокрема, майже не проходять через гематоенцефалічний бар'єр (наприклад, октаметил).

ФОС в організмі повністю або в значній частині піддаються метаболічним перетворенням. Окислювальні процеси різного типу (окислювальна десульфурація, *m*-деалкілування, *o*-деалкілування, окислення тіофосфатів, окислення бічних груп) здійснюються в мікросомальній фракції клітин (печінки зв інших тканинах) оксидаза змішаної функції. Внаслідок більш електрофільного кисню в порівнянні з сіркою ця реакція призводить до утворення більш активних і, як правило, більш токсичних сполук. Так,

активність тіофос, метафос, тіонові ізомеру меркаптофос і карбофосу підвищується в 10 000 разів.

Таким чином, різні перетворення ФОС в організмі протікають по типу летального синтезу, який здійснюється переважно в печінці. У зв'язку з цими найбільшу небезпеку становить пероральний шлях надходження ФОС, коли препарати швидко проникають у печінку.

Ферментний гідроліз є головним способом знешкодження ФОС, при якому здійснюється перехід ліпіднорозчинних речовин у водорозчинні, видаляється нирками.

ФОС виділяються в незміненому вигляді через дихальні шляхи (20-25%), з сечею (30%), інша частина (50%) піддається метаболізму в печінці і виводиться з сечею у вигляді метаболітів [9].

Ведучим звеном в механізмі дії ФОС на біологічні структури, а саме на організм людини є порушення каталітичної функції ферментів холіностераз, антихоліностеразна дія. В наслідок цього виникає розлад обміну ацетилхолін. Що виражається характерних змінах центральної і вегетативної нервової системи, а також порушенні діяльності внутрішніх органів і скелетної мускулатури. Ацетилхолін є медіатором в ЦНС при передачі імпульсів з рухових нервів на м'язи, у всіх гангліях (як парасимпатичних, так и в симпатичних), при переході збудження з постгангліонарних парасимпатичних волокон на ефекторні клітини, а також з постгангліонарних симпатичних волокон, інервуючих потові залози. Ацетилхолін накопичується в кінцівках нервових волокон і під дією нервових імпульсів визиває деполяризацію мембран, зміни їх проникливості, перерозподіл іонів Калію і Натрію, які приймають участь у передачі нервового збудження. При взаємодії холіностерази з ФОС утворюється фосфорильований фермент, не здатний реагувати з молекулами ацетилхоліна і втративши основну каталітичну функцію. Взаємодія між ФОС і холіностеразою є складною реакцією. Спочатку утворюється оборотимий комплекс інгібітору з ферментом (холіностеразу+ ФОС $\leftrightarrow$ холіностераза·ФОС), який існує долі секунди, потім відбувається фосФОСилування з виникненням стійкого фосфорильованого

фермента і продукта реакції – залишку ФОС (R)  $\rightarrow$ холінестераза·ФОС + R. Ця реакція протікає на протязі 1,5-2 год. Через 4-5 год фосфорильований фермент підлягає «старінню», яке виключає можливість його дефосфорилування : холінестеразу+ФОС+R (незворотне з'єднання). Рівні концентрації ФОС та активності холінестерази крові при гострих отруєннях наведена у таблиці 1.3. Ця реакція призводить до незворотного гноблення каталітичної функції холінестерази, накопиченню ендogenous ацетилхоліна і безперервному збудженню холінореактивних систем організму. ФОС також надає пряму блокуючу дію на холінореактивні системи – холінорецептори.

Таблиця 1.3 - Рівні концентрації і активності холінестерази

Лабораторні данні	Рівні концентрації		
	Пороговий	Критичний	Смертельний
Концентрація ФОС в крові, мкг/мл			
хлорофос	0,02 – 0,8	0,9 – 9,0	12,0 – 15,0
карбофос	0,01 – 0,17	0,2 -1,5	1,55 – 10,0
метафос	0,05 – 0,29	0,33 – 1,1	1,2 – 5,0
Активність холінестерази Цільної крові,% норми	57,08 ± 3,8	21,48±1,55	3,89±1,3

Токсична дія ФОС на нервову систему розцінюється як мускариноподібна, пов'язана з збудженням *m*-холінорецепторів (рясне потовиділення, салівація, бронхорея, спазм гладкої мускулатури бронхів, кишкового м'яз, веселкової оболонки ока з розвитком міозу); никатіноподібне пов'язане із збудженням *n*-Холінорецепторів (гіперкінези хореїчного і міоклонічного типу); курареподібна дія (периферичні паралічі). Крім того виділяється центральна дія ФОС – клонічні і тонічні судоми, психічні порушення, розлад свідомості до коматозного стану.

Клінічна картина гострих труень однотипна для різних ФОС. Відмінності складаються зазвичай у виразності симптомів порушення центральних і периферичних *m*- і *n*-холінореактивних систем, е швидкості

розвитку токсичного процесу і залежать від особливостей всмоктування, розподілу і виділення ФОС.

Клінічні симптоми гострих отруень ФОБ відображають токсикогенну стадію, коли холіноестераза з'єднується з інгібітором, і соматогенних стадію, коли організм пристосовується до низького рівня холіноестерази.

У всіх випадках гострого перорального отруєння ФОС є порушення ЦНС, які проявляються змінами психічної і біоелектричної активності головного мозку.

На соматогенній стадії отруєння спостерігаються астения, зниження психічної активності. У страждаючих алкоголізмом можливий розвиток гострого галюциноза. Внаслідок довго зберігаються емоційна лабільність, різке зниження професійних навичок, особливо в точних діях (друкарки). Нормалізація ЕЕГ повільно – до року зберігаються зміни основної активності мозку [10,11].

ФОС виявляють хімічним шляхом у блювотних масах, промивних водах, вмісті шлунку, в крові та сечі. Оскільки фосфорорганічні пестициди швидко гідролізуються, відсутність отрути в перелічених об'єктах ще не свідчить проти отруєння.

Смертельна доза тіофосу 6-8 мг/кг, карбофосу 400-1200 мг/кг, хлорофосу 400-900 мг/кг [11].

Потрапляючи до організму (через дихальні шляхи, шлунково – кишковий тракт, шкіру або слизову), проявляють дію на паренхіматозні органи та нервову систему, порушують процеси окислення та фосфорилування. Маючи високий збіг з жирами та ліпоїдами, ці речовини/ можуть накопичуватися в організмі і, особливо, в жировій клітчатці [12].

Отруєнням, або інтоксикацією називають патологічний стан, який розвивається внаслідок взаємодії живого організму і отрути.

Гострі отруєння в патогенетичному аспекті змістовно розглядати, як хімічну травму, що складається з декількох стадій.



## 2 МЕТОДИ ТА МАТЕРІАЛИ

Об'єктами ідентифікації та кількісного визначення пестицидів були біологічні рідини людей та промивні води.

Для ідентифікації та кількісного визначення пестицидів у біологічних матеріалах існує декілька методів. Для ідентифікації пестицидів використовуються якісні реакції, методи хроматографії в тонких шарах сорбенту; для кількісного визначення – фотометричний метод, газова хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія та інші методи [13].

Хроматографія включає групу аналітичних методів, які використовуються для розділення сумішей сполук на основі відповідних фізичних властивостей окремих речовин. Принцип, що лежить в основі преса, - вибіркоче розділення компонентів сумішей між двома несумісними фазами : рухомою і нерухомою. Нерухомою фазою може бути речовина або рідина, закріплена на щільному носії, а рухомою – рідина або газ.

### 2.1 Метод хроматографії в тонких шарах сорбенту

Хроматографія в тонких шарах сорбенту – спосіб аналізу, в якому процеси розділення сумішей речовин відбуваються в плоскому шарі сорбенту (нерухомій фазі). Вона поділяється на паперову та тонкошарову хроматографії (ТШХ). У першій в якості сорбенту використовується спеціальний папір, в другій процеси розділення відбуваються в тонких шарах сорбенту, нанесеного на інертну тверду поверхню (скляна пластинка).

В методі ТШХ нерухома фаза наноситься на тверду пластинку. В якості сорбенту частіше використовуються силікагель, оксид алюмінію, поліамід. На лінію старту (1,5-2 см від краю пластинки) наноситься аналізуємо суміш і стандартні речовини. Потім пластинку в герметичній камері занурюють в

розчинник, який виконує роль рухомої фази. Під дією капілярних сил розчинник рухається вздовж шару сорбенту до фінішу і з різною швидкістю переносити компоненти суміші, що призводить до їх розділення. Принцип розділення – неоднаково властивих що розділяються органічних речовин до нерухомої фази та стаціонарного сорбенту. Після досягнення розчинником (елюентом) лінії фінішу пластинку висушують і проводять ідентифікацію компонентів [14].

Деякі речовини не можливо виявити у видимій області, і для їх виявлення невидимі зони проявляють зрошенням пластини ТШХ спеціальними реагентами. Для виявлення кольорових плям можливо використовувати УФ-опромінення.

Важливою характеристикою ступеня розділення компонентів в тонкошаровій хроматографії є величина  $R_f$  – відношення відстані від центру плями на пластинці до лінії старту до відстані, що пройшов розчинник від лінії старту до фінішу. Величина  $R_f$  є характеристикою природи компонента що підлягає виявленню і залежить від сорбенту, розчинника, що використовуються для розділення, з табл. 2.1 впливає, що кожен пестицидний препарат має свою сукупність величин  $R_f$ . Для надійності ідентифікації речовин при визначенні  $R_f$  часто використовують «свідетели». Для цього на пластинку разом із сумішшю речовин які розділяються, хроматографують стандартні речовини («свідетели») [16].

Методика проведення хроматографування в тонких шарах сорбенту відбувається наступним чином: на пластинку наносять тонкий шар адсорбента. Проба розчинна в летючому розчиннику, наноситься у вигляді точки на стартову лінію, після чого край пластинки занурюють в рухомий розчинник (насичена камера з визначеною системою). Розчинник рухаючись в пористому матеріалі за рахунок капілярних сил, призводить до хроматографічного розділу речовин.

По закінченню хроматографування відмічають границю підйому розчинника тобто лінію фронту розчинника і проявляють місця локалізації досліджуваних компонентів суміші шляхом обробки однієї ділянки

1% розчином резорцина в 10% розчині натрій гідроксиду; другої ділянки 1% розчином фенілгідразину солянокислого в 12% розчині соляної кислоти; третьої ділянки сумішшю рівних кількостей 0,5% розчину *o*-толідіна в ацетоні, 2% спиртового розчину натрій гідроксиду і 10% розчину перекису водню; четверта ділянка служить для кількісного визначення. При обприскуванні реагентом однієї ділянки, інші закривають скляними пластинами. Обприскування проводять до повного рівномірного зволоження шару силікагелю. Після обробки розчинниками, пластину з шаром силікагелю обов'язково накривають пластиною-кришкою, для збереження визначеної вологості шару. Вимірюють відстань від точки нанесення проби – старту, до центру плями (АБ) і відстань від старту до фронту розчинника (АВ). Відношення цих величин -  $R_f$  визначають положення компонента на даній хроматограмі. Схема розвитку хроматограми наведена на рис. 2.1.

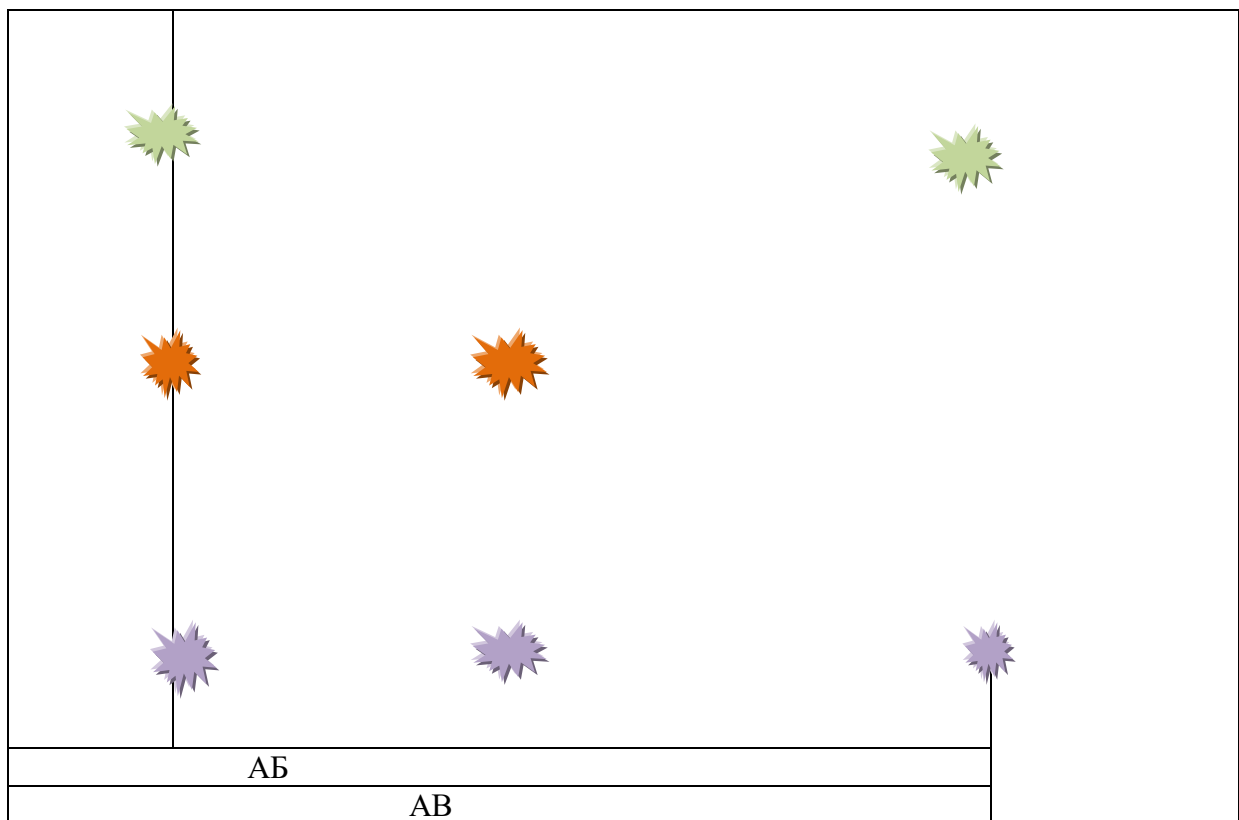


Рисунок 2.1 – Схема розвитку хроматограми

Примітка :  $R_f$  – відстань від старту до центра плями відстань від старту до фронту розчинника =  $\frac{АБ}{АВ}$  ..... (2.1)



Величина  $R_f$  залежить від адсорбенту, розміру йог часточок, товщини шару, природи рухомого розчинника, відстані пройденої розчинником, кількості нанесеної речовини, природи і кількості сукупних речовин, температури. Через це паралельно з пробою хроматографують на тій же пластинці «свідетель» – нативну речовину у чистому вигляді.

$$R_c = R_f \text{ компонента що аналізується} / R_f \text{ «свідетеля»}. \quad (2.2)$$

За величиною  $R_c$  та  $R_f$  ідентифікують речовину що аналізується.

Через 5-20 хвилин розвивається забарвлення плям. Проявка плям з  $R_f = 0,05-0,25$  (червоних з резорцином, жовто-померанчевих з о-толідіном і відсутність кирпично-бурих плям з фенілгідразиним вказує на наявність хлорофоса. Утворення п'ятен з  $R_f = 0,4-0,7$  з усіма трьома реагентами свідчить про наявність дихлофоса. Наявність характерних плям з  $R_f = 0,4-0,6$  при проявленні резорцином і фенілгідразиним і відсутності плям з о-толідіном є ознакою наявності дихлорацетальдегіда. Величина  $R_f$  досліджуваних розчинів порівнюється з величиною  $R_f$  «свідетеля» [15]. Величини  $R_f$ , деяких пестицидів наведені у табл. 2.1.

Таблиця 2.1 – Величини  $R_f$  деяких пестицидів

Пестицид	Система		Пестицид	Система	
	I	II		III	IV
	проявитель-реактив Драгендорфа			проявитель-0,01%водний розчин БФС	
Арриво	0,15	0,07; 0,22; 0,5	Орадельт	0,77	0,73
Децис	0,2; 0,7	0; 0,26	Фенаксин	0,14;	0,36
Карате	0,35; 0,72	0; 0,53	Фундузол	0,45; 0,53; 0,64	0,32; 0,44; 0,55
Неоцид	0,1; 0,3; 0,75	0; 0,1; 0,77	Бифитрин	0,17	0,2
Фастак	0,05	0; 0,2; 0,55;	Педицид	0,36; 0,5; 0,64	0,43; 0,65

Примітка : в якості систем використовувалися : I – хлороФОСм – метанол – 25%розчин аміаку (31: 8 : 1); II – толуол – ацетон – 96%етанол – 25% розчин аміаку (45 : 45 : 7 : 3); III – бензол – 96% етанол(8 : 2); IV – етилацетат – ацетон – вода (4 : 5 : 1) [16].

## 2.2 Метод газової хроматографії

Газова хроматографія – універсальний метод розділення сумішей різноманітних речовин, що випаровуються без розкладення. При цьому компоненти суміші, що розділяється пересуваються по хроматографічній колонці з током інертного газу (газ-носії). Суміш, що розділяється багаторазово розподіляється між газом-носієм (рухома фаза) та не летючою нерухомою рідкою фазою, нанесений на інертний матеріал (твердий носій).

Принцип розподілення – неоднакова спорідненість органічних речовин до летючої рухомої фази і стаціонарній фазі в колонці. Компоненти суміші селективно утримуються не рухомою фазою, а потім виходять з колонки і реєструються детектором. Сигнал детектора записується у вигляді хроматограми автоматичним потенціометром (самописцем) або реєструються на екрані комп'ютера. Ефективність розподілення суміші зростає з збільшенням числа елементарних актів розподілення речовин між рухомою та не рухомою фазами [17, 18].

В методі газової хроматографії речовини випаровують і пропускають через колонку за допомогою газу, який слугує в якості рухомої фази. Рухому фазу називають газом-носієм. Нерухомою фазою може слугувати тверда речовина або рідкий полімер, закріплений на внутрішній поверхні колонки. В першому випадку основним механізмом розділення є адсорбційний, в другому – розподільний.

Адсорбційний варіант газової хроматографії називається газо-твердофазовою [19]. Він використовується головним чином для аналізу атмосферного повітря. Переважаючим варіантом газової хроматографії є газорідина (яка скорочено називається просто «газовою»). Вона широко застосовується для визначення широкого спектру органічних речовин, включаючи спирти, альдегіди, жирні кислоти, розчинники та багато інших летких компонентів.

В газовій хроматографії будь-які численні величини, що характеризують утримання речовин, суттєво залежать від умов експерименту – в першу чергу від температури та тиску. Можливість розділення компонентів в газовій хроматографії визначається, з одного боку, їх відносними літкостями, а з іншого – їх відносною спорідненістю до нерухомої фази. Відносна спорідненість нерухомої фази до різних компонентів характеризує її селективність.

Для газохроматографічного аналізу субстанція, яку аналізують, може бути в газоподібному, рідкому або твердому стані, але необхідно, щоб вона була леткою при робочих температурах елементів газового хроматографа, в першу чергу – блоку введення проб, а також певним чином взаємодіяла з нерухомою фазою [20]. За таких умов забезпечується введення та розділення компонентів субстанції в хроматографічній колонці.

У випадку газової хроматографії велику роль у розділенні компонентів грає коефіцієнт розподілення  $K$ . В даному методі компоненти розподіляються між газовою (індекс  $G$ ) і нерухомою (індекс  $S$ ) фазами, і набуває вигляду рівняння 2.3 [20] :

$$K = \frac{c_S}{c_G} \quad (2.3)$$

Залежно від того, в якій фазі концентрація компонента при розділенні більша, пік на хроматограмі змінюється. Так, якщо концентрація компонента більша в газовій фазі, то форма піка зміщується вправо; якщо ж компонент має сильну спорідненість до нерухомої фази, симетрія піка зміститься ліворуч. На основі цього підбирають оптимальний потік газу-носія, враховуючи його особливості, а також застосовують відповідну колонку з певною полярністю нерухомої фази.

Виходячи з описаних вище особливостей газової хроматографії (використання газу в якості рухомої фази, програмування та підтримування температури та тиску) впливає, що для виконання газової хроматографії необхідне спеціальне обладнання. Ним слугує газовий хроматограф –

складна автоматична система, яка здатна регулювати потік газу носія та програмовано змінювати температуру в ході аналізу. Схема роботи газового хроматографа зображена на рис. 2.2.

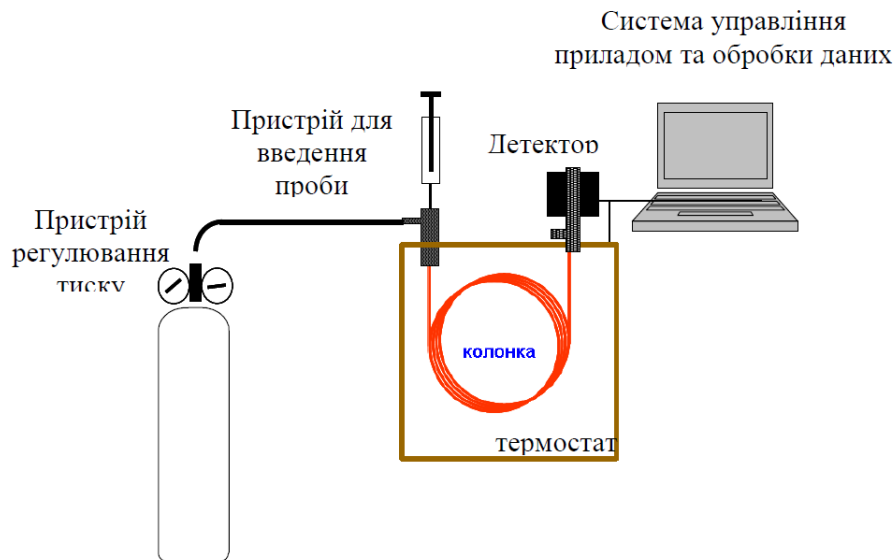


Рисунок 2.2 – Схема роботи системи газового хроматографа

Основними елементами системи газового хроматографа є:

а) джерело газу-носія (газовий балон або генератор газу). Найчастіше в якості газу-носія використовують азот ( $N_2$ ), гелій (He) та водень ( $H_2$ ) [21]. Кожен з них має ряд особливостей, які впливають на якість та тривалість аналізу. Загальна вимога: гази мають бути максимально чистими, і їх чистота має складати  $\geq 99,9995\%$ ; в іншому випадку може виникати ряд проблем, як деградація блоку введення проб, виведення з ладу фази колонки чи поява сторонніх піків на хроматограмі.

б) блок введення проб (порт інжектора) – елемент системи ГХ, де проба випаровується та подається в колонку. Саме цей елемент регулює тиск газу-носія, внаслідок чого створюється потік, який рухає компоненти в колонці. Аліквота рідкої проби (найчастіше 1 мкл) або безпосереднього газу чи парова фаза вводиться в нагрітий інжектор (його температура має бути принаймні на  $50^\circ C$  вища за температури кипіння компонентів проби),

внаслідок чого проба випаровується, перемішується з газом-носієм і під чітко встановленим тиском потрапляє в колонку [22].

Складовими частинами інжектора є: септа (спеціальний гумовий диск для герметизації), лайнер (виготовляється зі спеціального дезактивованого скла), система управління тиском (в тому числі шестиходовий кран, що контролює потоки) та термостат [22].

в) колонка – це елемент хроматографа, в якому безпосередньо відбувається розділення компонентів субстанції. Колонки для ГХ бувають двох типів: набивні та капілярні. Набивні мають великий діаметр, меншу довжину (максимум 10 м), і найчастіше виготовляються з металу, рідше – зі скла, а всередині неї знаходяться частинки з нанесеною на них нерухомою фазою [21,22]. Капілярні колонки мають значно менший діаметр (до 1 мм), їх довжина може складати від 10 до 100 м, а в їх структурі лежить три шари: кварцове скло (зовнішній) і поліамідне покриття (внутрішній) з нанесеним на нього тонким шаром нерухомої фази [23].

Колонки для газової хроматографії герметично приєднують до блоку введення проб та детектора. В такому положенні вони знаходяться всередині термостата, який підтримує температуру на необхідному рівні, або змінює її за програмою.

г) детектор – пристрій, який реєструє аналітичний сигнал. Детектори можуть мати різний принцип роботи та різну будову, залежно від того для виявлення яких речовин вони застосовуються.

В ГХ найчастіше використовуються наступні детектори:

– полум'яно-іонізаційний детектор (ПІД) – універсальний детектор, що застосовується для визначення більшості органічних речовин. Особливо чутливий до С–С-зв'язків. Принцип – вимірювання струму при згорянні сполук в комірці детектора [24]. Для роботи потребує  $H_2$  та  $O_2$ .

– електронно-захватний детектор (ЕЗД) – селективний детектор, чутливий до більшості електрофільних речовин, особливо до галогенованих органічних сполук, зокрема хлорорганічних пестицидів. Для роботи необхідний газ, здатний до утворення електронів (наприклад,  $N_2$  або  $Ar$ ) [21].

– мас-спектрометр (МС) – універсальний високочутливий детектор, що дозволяє одночасно ідентифікувати речовини, поєднуючи хроматографічне розділення з мас-спектрометричним розподіленням молекул за масою їх іонів[24].

– інші типи детекторів (азот-фосфорний, фотоіонізаційний, детектор електричної провідності тощо) [24].

Всі наведені елементи ГХ впливають на якість аналізу. Використання різних комбінацій складових хроматографа може бути ефективним для визначення широкого спектру речовин. При правильному підборі компонентів ГХ можна досягти значної чутливості та селективності визначення, що особливо важливо для аналізу зразків на вміст залишкових кількостей речовин, як показано на рис. 2.3.

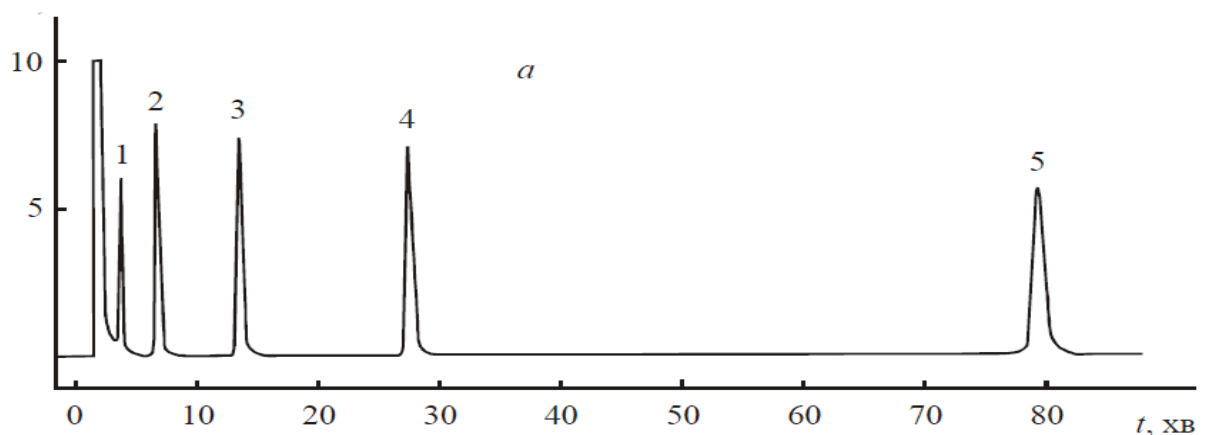


Рисунок 2.3 – Хроматограма суміші пестицидів ізотермічному режимі (а – 120°C)

#### 2.4 Високоєфективна рідинна хроматографія

Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) – це метод розділення речовин, у якому рухомою фазою є рідина, а нерухою фазою є тонкодисперсна тверда речовина, або рідина, нанесена на твердий носій, або

твердий тонкодисперсний носій, хімічно модифікований введенням органічних груп. Рідинний хроматограф складається з системи подачі рухомої фази, блока вводу проби, хроматографічної колонки, детектора і реєструючого пристрою (рис. 2.4). Рухома фаза звичайно подається під тиском із однієї або декількох посудин і протікає через блок вводу проби, колонку, а потім через детектор із заданою швидкістю. Сигнал від детектора перетворюється, підсилюється і реєструється у вигляді хроматограми, аналогічно до хроматограми у газовій хроматографії.

Для вводу проби використовують питлеві дозатори, спеціальні мікрошприци або систему автоматичного пробовідбору.

Розділення речовин у рідинній хроматографії базується на механізмах сорбції, розподілу, іонного обміну або розділення за розмірами молекул. Розділення відбувається у колонці рідинного хроматографа, до якої під високим тиском подається рідина. Це дозволяє розділяти складні суміші речовин швидко і повно (середній час аналізу від 3 до 30 хв.) [ 25].

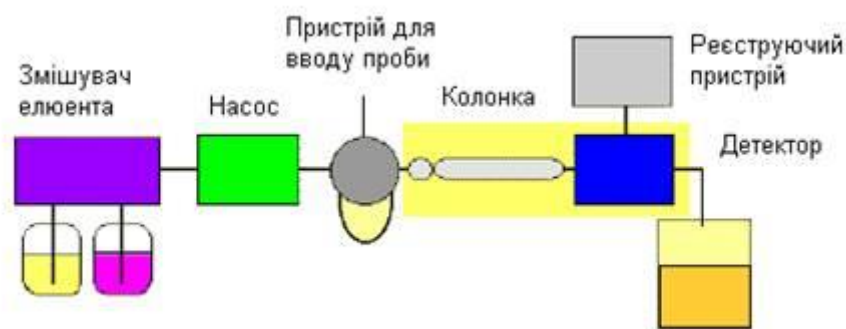


Рисунок 2.4 – Схема будови рідинного хроматографа

Критерії, що характеризують хроматографічний процес: утримання, ефективність і ступінь розділення, їх визначають за хроматограмою. Основною характеристикою речовини є об'єм утримання, який для і-того компонента розраховують за рівнянням 2.4.

$$V_{Ri} = F \cdot t_i = V_m + K_i \cdot V_s, \quad (2.4)$$

де  $V_m = F \cdot t_m$  – мертвий об'єм колонки, або об'єм утримання компонента, що не сорбується;

$F$  – об'ємна швидкість рухомої фази;

$t_m$  – час утримання компонента, що не сорбується;

$t_i$  – час утримання  $i$ -того компонента;

$K_i$  – константа розподілення яка дорівнює відношенню концентрації  $i$ -того компонента в нерухомій і рухомій фазах;

$V_s$  – об'єм нерухомої фази.

Для перевірки достовірності результатів аналізу використовують такі показники, як коефіцієнт симетрії піка, коефіцієнт розділення, число теоретичних тарілок, коефіцієнт ємності компонента та відношення сигнал/шум.

Однією з характеристик хроматограми є форма піка. Вона залежить від навантаження й умов хроматографування (вибору нерухомої фази, складу і швидкості руху рухомої фази). При правильному виборі умов хроматографування утворюються симетричні піки.

## 2.5 Методи статистичної обробки

Статистичну обробку результатів проводили методом обчислення середньої арифметичної, помилки середньої арифметичної, середнього квадратичного відхилення. Вірогідність відмінностей між середніми величинами оцінювали за критерієм Стьюдента.

Основним показником, що характеризує сукупність за величиною ознаки, яка вивчається є середня арифметична ( $\bar{X}$ ). Прямий спосіб її



обчислення полягає в складанні усіх варіант ( $X_1 + X_2 + \dots + X_N$ ) з наступним діленням суми на число варіант сукупності ( $N$ ) для рівняння (2.5) :

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}, \quad (2.5)$$

де  $\sum X_i$  – сума варіант,  $N$  – число варіант у виборці.

Далі підраховували відхилення кожного з отриманих результатів від середньої арифметичної  $x_i - \bar{x}$  ( $x_i - \bar{x}$ )<sup>2</sup>, після чого розраховували середнє квадратичне відхилення за формулою (2.6) :

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_s - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (2.6)$$

Потім знаходили величину середньої помилки ( $S_{\bar{x}}$ ), яка прямо пропорційна середньому квадратичному відхиленню та обернено пропорційна числу проведених досліджень (2.7) :

$$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n-1}} \quad (2.7)$$

Для визначення значущості чи незначущості різниці між двома відтворюваностями  $S_1^2$  і  $S_2^2$  застосовують тест Фішера [26]. Так як дисперсії  $S^2$  є випадковими величинами, їх необхідно порівнювати, використовуючи відповідні статистичні тести. В тесті Фішера тестовою статистикою слугує відношення більшої дисперсії до меншої, формула (2.8) :

$$\xi = \frac{S_1^2}{S_2^2} \quad (2.8)$$

Необхідно, щоб  $S_1^2 \geq S_2^2$ , і, відповідно,  $\xi \geq 1$ , в іншому випадку індекси слід поміняти місцями [24]. Критичним значенням слугує коефіцієнт Фішера  $F(p, f_1, f_2)$ , який залежить від трьох параметрів – довірчої вірогідності  $p$ , і чисел

ступенів свободи  $f_1$  і  $f_2$  дисперсій  $S_1^2$  і  $S_2^2$ , відповідно. Слід відмітити, що  $F(f_1, f_2) \neq F(f_2, f_1)$ , тому варто бути вкрай уважним під час роботи з таблицею.

Якщо різниця між двома дисперсіями (відтворюваностями) незначуща, тобто, значення тестової статистики (2.8) менше за табличне значення коефіцієнта Фішера для обраних параметрів, то використовують модифікований (або точний) тест Стьюдента [27]. Тестова статистика для модифікованого тесту Стьюдента обчислюється за формулою (2.9) :

$$\xi = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\bar{S}(x)} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} \quad (2.9)$$

де:  $n_1$  і  $n_2$  – числа паралельних вимірювань;

$\bar{x}_1$  і  $\bar{x}_2$  – середні значення двох вимірювань;

$\bar{S}(x)$  – середнє стандартне відхилення, яке обчислюється за формулою (2.10):

$$\bar{S}(x) = \sqrt{\bar{S}^2(x)} = \sqrt{\frac{f_1 S_1^2 + f_2 S_2^2}{f_1 + f_2}} \quad (2.10)$$

Критичним значенням для тестової статистики (2.9) є коефіцієнт Стьюдента  $t(p, f)$ . Ступені свободи в даному випадку дорівнюють сумі ступенів свободи для обох вимірювань:  $f = f_1 + f_2$  [35]. Якщо тестова статистика (2.9) перевищує значення коефіцієнта Стьюдента  $t(p, f)$ , то роблять висновок про похибку однієї методики відносно іншої.

У випадку, якщо різниця між двома дисперсіями значуща, тобто, значення тестової статистики (2.8) більше за табличне значення коефіцієнта Фішера для обраних параметрів, то використовують простий (або наближений) тест Стьюдента [35]. В цьому разі роблять припущення, що  $S_2^2 = 0$ ,  $\bar{x}_2 = a$ , і обчислюють тестову статистику за формулою (2.11) :

$$\xi = \frac{|x - a|}{S(x)} \sqrt{n} \quad (2.11)$$

Отримане значення тестової статистики 2.11 порівнюють з табличним значенням коефіцієнта Стьюдента  $t(p, f)$ , де  $f = n - 1$  [26].

### 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Об'єктами хроматографічного дослідження були біологічні рідини людей, які постраждали від отруєння пестицидами. Біологічні рідини людей доставлені з токсикологічного відділення Миколаївської обласної лікарні швидкої медичної допомоги.

Зокрема одними з найнебезпечніших сполук є фосфорорганічні пестициди та їх похідні.

При потраплянні в організм людини та ненадання відповідної екстреної медичної допомоги призводить до літального випадку.

Об'єкт дослідження - 4,5-дигідро-N-нітро-1-[(6-хлор-3-піридил)-метил]імідазолідін-2-іленамін (рис 3.1).

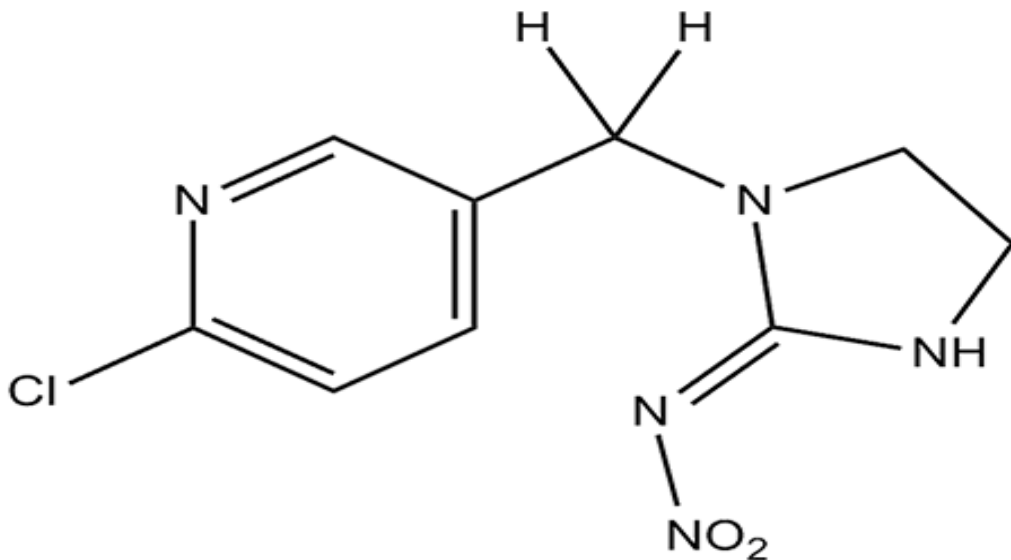


Рисунок 3.1 – Будова досліджуваного пестициду

Діюча речовина - Імідоклаприд ,англійською – Imidocloprid, хімічний клас – Неоникотиноїд, синоніми: Діметоат, Рогор, Би-58

Фізико-хімічні властивості :

М.м. 229,2;

Температура плавлення 51-52°C

Леткість 0,107мг/м<sup>3</sup>

Розчинний у воді 3,9%, добре розчинний в ацетоні, хлороформі. Погано розчинний у парафінах

Способи проникнення – кишковий, контактний, системний. Клас небезпеки для людини - 3 (2мл/кг)

Для ідентифікації, кількісного визначення, достовірності висновків судово-медичних експертів та діагнозів поставлених лікарями лікарні швидкої допомоги, застосовується метод газо-рідинної хроматографії, який дозволяє знаходити слідові кількості цих небезпечних речовин.

В якості об'єктів аналізу для визначення вмісту «Фосфаміду®» були використані біологічні рідини людей, що постраждали від отруєння «Фосфамідом®».

### 3.1 Ідентифікація пестициду методом ТШХ

Екстракція і очистка екстракту проводиться з допомогою органічних розчинників.

До 50 мл сечі доливають 5 мл води, 10 мл хлороформу і екстрагують, обережно струшуючи протягом 30 хв. екстракцію проводять трічі порціями хлороформу по 10-20 мл. Органічний шар відокремлюють, об'єднують. Екстракти об'єднують, пропускають через шар безводного натрій сульфату (2 г), фільтрують. Відганяють розчинник приблизно до обсягу 0,2-0,5 мл.

Пробу крові (2 мл) відбирають у пробірку, змочену 5% -ним розчином цитрату натрію. Доливають 4 мл хлороформу і обережно струшують на холоді 20 хв. Органічний шар відокремлюють, фільтрують, пропускають через безводний натрій сульфат. Екстракцію проводять двічі порціями розчинника по 4 мл. Далі надходять так само, як з пробами сечі.

Пробу 0,2-0,5 мл кількісно наносять на хроматографічну пластинку, паралельно на цю ж пластинку наносять стандартні розчини пестициду, що містять 0,5-10 мкг, Розміщують пластинку в хроматографічну камеру, куди попередньо (за 20-30 хв.) наливають рухливу фазу. Після підняття фронту розчинника на висоту 10-12 см пластинку виймають з камери і дають зникнути слідах розчинника.

Хроматографування проводилось на пластинках «Силуфол», тому використовувався проявляють реагенти №№ 1, 2, 3 (бром феноловим синім, паладій хлоридом, аргентуму нітратом).

Через 15-20 хв. після обприскування пластинки виявляють реагентом № 1 обприскують 5%-ним розчином лимонної кислоти. Пестициди і деякі метаболіти фарбуються в синій, темно-блакитний, синьо-зелений колір на світло-жовтому тлі пластинки. якщо застосовують виявляє реагент № 2, то відразу після обприскування фосфамід зафарбовується в світло-коричневий колір, іноді з жовтуватим відтінком.

Після обприскування котрі виявляють реагентом №3 пластинка поміщалася в сушильну шафу при 110-115 ° С на 2-3хв. на світлому тлі пластинки зони локалізації пестицидів і їх фосфорорганічних аналогів фарбуються в яскраво-червоний і рубіново-жовтий кольори відповідно, а інших метаболітів - в рожево-червоний колір (додаток Б).

Величина  $R_f$  «Фосфаміду®» 0,55-0,6; кисневого аналога (P-O) «Фосфаміду®» - 0,2-0,25.

### 3.2 Визначення «Фосфаміду®» методом газорідинної хроматографії.

Для визначення ідентифікації та вмісту «Фосфаміду®» в біологічних рідинах використовувався газовий хроматограф Кристал 2000 з ТІД-хроматон N-AW-DMCS +5% SE-30 при використанні ДЕЗ (детектора електронного захоплення); застосовувався метод газорідинної хроматографії.

Приготування стандартних розчинів з вмістом 100; 10; 2 и 0,2 мкг/мл в гексані.

Якщо, стандартний розчин готують з препаративної форми, то зважають на вміст діючої речовини, при необхідності фільтрують.

Колонка :

- матеріал: скло кварцове;
- розміри:  $l = 1\text{м}$ ,  $\text{Ø} = 3\text{ мм}$ ;
- час виходу, хв. : «Фосфаміду®» 2,1-4.8; фосфорорганічні аналоги «Фосфаміду®» - 1,5- 5,6.

Умови хроматографування наведені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1 – Температури елементів ГРХ під час аналізу .

Характеристика	ДЕЗ
Насадка	Хроматон+5% ХЕ – 60
Температура, °С:	
Колонки	180
Випаровувача	220-230
Детектора	190
Росхід, мл/хв	40-60 (азот особливої чистоти)
Чуттєвість шкали електроамперметра, А	$(20 \dots 50) 10^{-12}$
Мінімальна детектуїма кількість, нг	0,5

На рис. 1.3 приведена хроматограма поділу сумішей фосфорорганічних пестицидів, з якої видно, що на зазначеній колонці можливо провести якісне і кількісне розділення аналізованих речовин. Ідентифікацію компонентів проводила за відносним часом утримання, які збігаються з даними.

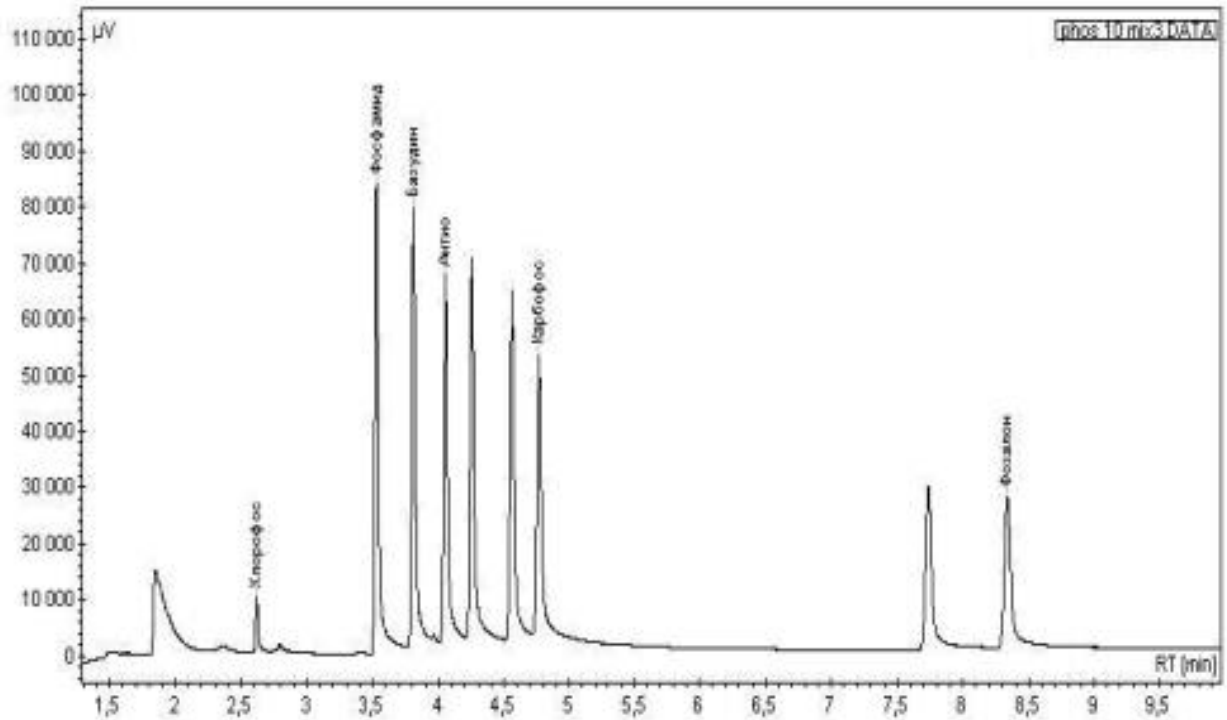


Рисунок 3.1 – Типова хроматограма суміші ФОС (2мкл 0,1мкл/мл). Час утримання: хлорофос – 2,52 хв., фосфоамід – 3,52 хв., діазинон – 0,84 хв., метафос – 1,7 хв., фазалон – 1,84 хв., карбофос – 4,5 хв.

### 3.3 Обчислення результатів досліджень

Кількісну обробку результатів проводять методом абсолютної калібровки. Для цього будується калібрувальний графік залежності площі від концентрації. Вводиться в хроматограф 2-5 мкл стандартного розчину, що містить 0,2 -20 мкг/мл «Фосфаміду®».

При аналізі проб паралельне визначення проводять не менше трьох раз, об'єм проби 2-5 мкл.

Розрахунок пестицидів в пробі (х, мкг/г, мкг/мл) проводять по формулі 3.1.



$$X = \frac{CS_{\text{пр}} V}{S_{\text{ст}} P}, \quad (3.1)$$

де  $C$  – кількість пестициду на хроматографі стандарту, мкг;

$S_{\text{ст}}$  – площа піку на хроматограмі стандарту, мм<sup>2</sup>;

$S_{\text{пр}}$  – площа піку на хроматограмі проби, мм<sup>2</sup>;

$V$  – загальний об'єм екстракту проби, мм;

$V_1$  – об'єм екстракту проби, що хроматографувався, мм;

$P$  – наважка, або об'єм проби, г чи мл.

Токсикологічні показники у об'єктів з діагнозом отруєння фосфорорганічними пестицидами.

Було досліджено 12 об'єктів з діагнозом – «отруєння фосфорорганічними пестицидами». У ході токсикологічного дослідження проводилися аналізи крові, сечі та промивних вод. Також під аналіз підпадає вік, стать постраждалих. Токсикологічні показники з досліджень біологічних рідин та промивних вод. Результати досліджень наведені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 – Токсикологічні показники досліджень

№ з/п	Вік, роки	ППП стать	Вміст пестициду мкл/мл			
			Кров	Сеча	Промивні води	Назва пестициду
1	42	чоловік	0,18	0,2134	0,212	фосфамід
2	38	жінка	0,24	0,3542	0,294	фосфамід
3	45	чоловік	0,08	0,0634	0,102	фосфамід
4	43	чоловік	0,34	0,0547	0,382	фосфамід
5	51	чоловік	0,07	0,0568	0,116	фосфамід
6	44	чоловік	0,48	0,0429	0,502	фосфамід
7	15	чоловік	0,82	0,0046	0,884	фосфамід
8	28	жінка	0,39	0,0648	0,461	фосфамід
9	43	жінка	0,58	0,2002	0,627	фосфамід
10	42	чоловік	0,98	0,3001	0,273	фосфамід

11	4	чоловік	0,23	0,0413	0,264	фосфамід
12	53	чоловік	0,42	0,1484	0,486	фосфамід

### 3.4 Статистична обробка отриманих даних

Використовуючи формул (2.5-2.7), було визначено середнє значення, дисперсію та похибку значення. Коефіцієнт Ст'юдента  $t$  (0.95; 12) для проведених вимірювань дорівнює 1,78 [35]. Результати обробки наведені в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3 – Середнє значення, дисперсія і похибка вмісту «Фосфаміду®» у біологічних рідинах

Об'єкти	Параметр	Вміст «Фосфаміду®»
Кров	Середнє значення	0,42
	Дисперсія	$10,00 \cdot 10^{-6}$
	Похибка	$9,6 \cdot 10^{-6}$
Сеча	Середнє значення	0,1484
	Дисперсія	$3,62 \cdot 10^{-6}$
	Похибка	$1,88 \cdot 10^{-6}$
Промивні води	Середнє значення	0,486
	Дисперсія	$7,38 \cdot 10^{-6}$
	Похибка	$7,81 \cdot 10^{-6}$

Достовірність результатів аналізу в крові та сечі показана в табл. 3.4-3.5.

Таблиця 3.4 – Достовірність показників в крові

№ за таблицею 3.1	Вміст пестициду в крові мкг/мл	Показник смертельного рівня пестициду мкг/мл
1	0,18 ± 26*	0,6
2	0,24 ± 14*	0,6
3	0,08 ± 8*	0,6
4	0,34 ± 42*	0,6
5	0,07 ± 6*	0,6
6	0,48 ± 48*	0,6
7	0,82 ± 86*	0,6
8	0,39 ± 44*	0,6
9	0,58 ± 98*	0,6
10	0,98 ± 121*	0,6
11	0,23 ± 14 *	0,6
12	0,42 ± 41*	0,6

Таблиця 3.5 – Достовірність показників в сечі

№ за таблицею 3.1	Вміст пестициду в сечі мкг/мл	Показник смертельного рівня пестициду мкг/мл
1	0,2134 ± 14*	0,6
2	0,3542 ± 12*	0,6
3	0,0634 ± 8*	0,6
4	0,0547 ± 31*	0,6
5	0,0568 ± 6*	0,6
6	0,0429 ± 32*	0,6
7	0,0046 ± 9*	0,6
8	0,0648 ± 19*	0,6
9	0,2002 ± 45*	0,6
10	0,3001 ± 52*	0,6
11	0,0413 ± 13*	0,6
12	0,1484 ± 63*	0,6

Примітка. \* - відмінності достовірні (P < 0,95)

### 3.5 Обговорення отриманих результатів досліджень

Було обстежено 12 об'єктів діагнозом отруєнням пестицидами. Дослідження проводилися у судово-токсикологічному відділенні Миколаївського обласного бюро судово-медичної експертизи.

Аналіз показав, що даний пестицид знаходяться в пробах у концентраціях в діапазоні: в крові 0,07-0,98 мкг/мл, в сечі 0,0046-0,3848 мкг/мл, в промивних водах 0,102-0,884 мкг/мл.

Статистичну обробку отриманих результатів проводила на персональному комп'ютері з використанням програми «Excel». Достовірність результатів оцінювала за допомогою критерію Стюдента. Результати досліджень представлені у табл. 3.3-3.5.

Аналізуючи токсикологічні результати показників, звертає увагу високий вміст «Фосфоміду®» : максимальний показник 0,98 мкг/мл, а мінімальний 0,07 мкг/мл. Максимальний показник перевищує вміст смертельного рівню 1,2 рази. У сечі максимальний показник 0,3542 мкг/мл, а мінімальний 0,0046 мкг/мл. У промивних водах мінімальний показник 0,120 мкг/мл, а максимальний 0,884 мкг/мл.

Порівняльна характеристика вмісту «Фосфаміду®» в крові наведена у вигляді діаграми у додатку А.

Проаналізувавши токсикологічні показники вмісту пестициду, експерт робить висновок про шлях потрапляння пестициду до організму. Знаючи кількісний вміст пестициду в резорбційній рідині, а також в елімінаційній та використовуючи деякі обставини справи, експерт визначає динаміку дифузних процесів. За допомогою диференційного рівняння, на основі розрахунків регресивного аналізу, визначаються наступні параметри : константа швидкості виділення (елімінації) пестициду, період напівперебування отрути і максимальний проміжок токсикологічного отруєння, визначається проміжок часу між потраплянням пестициду в організм та наданням медичної допомоги. Використовуючи вказані

параметри , відповідно приймається об'єктивне рішення, про можливість врятування потерпілого.

#### 4 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

В процесі проведення токсикологічних досліджень приходиться мати справу з біологічно активними речовинами, трупним матеріалом, електроприладами і лабораторним посудом. Необережність у звертанні з хімікатами і приладами, неуважність і неправильне проведення роботи можуть мати важкі наслідки. Тому, завдяки теоретичним курсам «Охорона праці», «Охорона праці в галузі», що проводилися на четвертому і п'ятому курсах відповідно, я всі набуті теоретичні знання використала на практиці, тим самим звела до мінімуму ризик роботи проведення токсикологічних досліджень, що необхідні для виконання моєї дипломної роботи.

Техніка безпеки поряд з виробничою санітарією є частиною охорони праці. Під технікою безпеки розуміють сукупність технічних засобів і прийомів виконання операції, що зводять до мінімуму ризик на роботі. Безпека проведення у лабораторіях повинна забезпечуватися відповідно до вимог ДСТ 12.3.002-75 та інших діючих нормативних актів [28].

Відповідність санітарно-гігієнічного режиму лабораторії встановленим нормам є запорука безпечної роботи дослідника. У робочій зоні лабораторії повинні дотримуватися визначені параметри температури, вологості, освітленості, швидкість переміщення повітря, усе повинно відповідати вимогам. Дуже важливо, щоб у приміщенні не створювався застої повітря. Повітря робочої зони повинно відповідати ДСТу 12.1.005-88. Необхідно забезпечувати постійний його рух, шляхом відкриття вікон, у випадку використання отруйних та неприємно пахучих речовин, приточно витяжної вентиляції, що повинна відповідати СНиП 2.04.05-91 [29] і ДНАОП 0.03-3.15-89 [30]. Важливе значення має створення нормальної освітленості робочого місця. Освітленість створюється сонцем і за допомогою ламп накаливання або люмінесцентних ламп. Природне і штучне освітлення лабораторії повинне відповідати вимогам СНиП 11-4-79 [31].

При роботі з хімічними реактивами обов'язковим спецодяг (халат з бавовняної тканини) згідно ст. 163 кодексу законів про працю України 36) і ДНАОП 0.004-4.26-96 [32]. У тканини не повинно бути добавок синтетичних волокон, тому що у випадку займання оплавлені частини халату важко видалити з одягу [33].

При проведенні дослідів у лабораторії застосовується хімічний посуд: загального і спеціального призначення, і мірний. Дуже часто використовуються пробірки. Неприпустимо, щоб пробірка була наповнена до країв, щоб уникнути вихлюпування і попадання рідин на шкіру експериментатора. Зовсім неприпустимо закривати пробірку і струшувати її в такому виді, оскільки можна зашкодити шкіру пальцем і струшувати її в такому виді, оскільки можна зашкодити шкіру чи одержати опік. При нагріванні відкритий кінець пробірки повинен бути звернений убік від працюючого і від сусідів по столу, щоб уникнути попадання на шкіру чи в очі випадково виплеснутої рідини. При митті посуду треба стежити за тим, щоб йорж не вдарявся об дно і стінки посуду, тому що так можна вибити і викидати концентровані розчини кислот і лугів, що дурно пахнуть, та отруйні речовини, і т.п. При виливанні в раковину таких речовин можливе їхнє випаровування й отруєння повітря лабораторії. Концентровані кислоти і луги необхідно попередньо сильно розбавити чи нейтралізувати, щоб уникнути руйнування каналізаційної мережі [34,35,33].

Техніка безпеки при роботі з електричними приладами. При написанні моєї роботи мені довелося працювати із електроприладами. Усі мої дії підпорядковувалися вимогам ДНАОП 1.1 10-1.01.97 «Правила безпечної експлуатації електроустановок споживачів» [37], ДОСТ 12.1.019-79 [38]. «Електробезпека. Загальні вимоги й номенклатура видів захисту» та ДОСТ 12.2.007.0-75 «Вимоги електротехнічні. Загальні вимоги безпеки» [39]. Перед початком роботи прилади перевірялися на справність, перевірялася цілісність дротів та електропилки, проводилася перевірка заземлення (занулення) приладів, для яких це передбачене інструкцією. З усіма приладами я працювала у присутності лаборанта та чітко дотримуючись їх інструкцій та

паспортів заводу-виробника. Після закінчення дослідів, а також коли прилад був тимчасово не потрібен він був відключений від електромережі. Використовувалася лише діючі прилади, що пройшли обов'язковий профілактичний огляд та перевірку [40].

При роботі на комп'ютері. До роботи на комп'ютері допускаються особи, що пройшли навчання та інструктаж з охорони праці. Усі особи, що працюють на комп'ютері, повинні знати міри захисту та прийоми надання першої долікарської допомоги при ураженні електричним струмом.

Вмикання комп'ютерів до електричної мережі здійснюється тільки через спеціально встановлені електричні розетки або вилки із заземленням. Підключення комп'ютера дротом без вилки забороняється.

Шкідливі фактори, що діють при роботі на комп'ютерах:

- Робота на комп'ютерах пов'язана з навантаженням на зір, опорно-руховий апарат, а також емоційного та психологічного характеру;
- Вплив на зір апаратура здійснює через такі фактори: яскравість зображення, колір, відповідність символів, відстань між рядками, стійкість зображення.

Площа, що припадає на одного працюючого з дисплеєм, повинна бути не менше 6,0 м<sup>2</sup>. Відстань між робочими місцями повинна бути не менше 1,5 м в ряду, і не менше 1,25 м між рядками. В приміщеннях, обладнаних відео терміналом, стіни слід фарбувати фарбами пастельних тонів. Фарбованим поверхням слід надавати матову фактуру. Допустимі рівні температури повітря в дисплейних +22... +24 С і швидкість руху повітря не менше 0,2 м/с.

В приміщеннях з дисплеями слід проводити вологе прибирання і регулярне провітрювання протягом робочої зміни. Видалення пилу з екрану слід проводити не рідше 1 разу за зміну.

Покриття стола повинно бути матовим з коефіцієнтом відбиття 0,25-0,4. Освітлення робочих місць в горизонтальній площині на рівні 0,8 м від підлоги повинно бути не менше 400 лк. Для штучного освітлення в дисплейних залах, як правило бути не менше 400 лк. Для штучного



освітлення в дисплейних залах, як правило, слід застосувати люмінесцентні лампи типу ЛБ.

Перед початком роботи видалити пил з екрану, установити захисний екран, перевірити захисне заземлення (занулення), упевнитись у наявності засобів гасіння вогню.

Відстань від очей користувача до екрану дисплея повинна становити 50 – 70 см, кут зору 10-20°, але не більше 40°. Переважним є розташування площі екрана перпендикулярно до лінії зору користувача. Руки користувача повинні розташуватися на робочому столі в горизонтальному положенні, або злегка нахилені, кут ліктя повинен складати 70-90° необхідна гарна опора для спини та сідниць. Стегна розташовують паралельно підлозі або підставці.

Необхідно передбачати дотримання регламентованої перерв, активне їх проведення, регулярне заняття виробничою гімнастикою, рівномірне розподілення завдань.

Для запобігання перенапруги організму обмежувати сумарний час роботи за відео матеріалами до 50% в продовж зміни.

Різні види робіт вимагають різного підходу в організації перерв. Для робіт, що використовуються з великим навантаженням рекомендується 10-15 хв. Через кожні 2 години. Кількість мікро пауз (тривалість 2 хв) повинна регулюватися індивідуально.

Форма зміст можуть бути різними: виконання альтернативної допоміжної роботи, що не вимагає великої напруги, проведення фізичних вправ на корекцію вимушеної пози, покращенню венозного кровообігу, часткове поновлення дефіциту активного руху.

При виникненні аварійної ситуації металоконструкції ЕОМ опинилася під напругою. При доторканні до неї відчувається проходження струму. При спалахуванні проводки в середині апаратури – необхідно вимкнути електроспоживання ЕОМ, вимкнувши вилку.

При необхідності гасіння пожежі використати вогнегасник. При виникненні аварійної ситуації повідомити підрозділ .

Після закінчення робіт необхідно від'єднати апаратуру від електромережі.

Під час проведення дослідження трапляються нещасні випадки. Це передусім пов'язано з недотриманням правил техніки безпеки при використанні реактивів для визначення біохімічних показників, при використанні апаратів і при роботі з комп'ютером.

До нещасних випадків, які можуть статися при виконанні моєї роботи, відносяться термічні і хімічні опіки, електротравми, попадання біологічних рідин на одяг, шкіру і слизові оболонки, а також виникнення задухи при роботі у лабораторії з неполагодженими витяжками.

Тому дуже важливо знати долікарняну допомогу при цих випадках, щоб зарадити їм і їх наслідкам.

Термічні опіки виникають при дії високої температури, що приводить до коагуляції білків шкіри. При цьому клітини шкіри гинуть і піддаються розпаду. Чим вища температура і триваліша її дія, тим глибше ураження тіла.

Перша допомога при термічних опіках заключається в швидкому припиненні дії високої температури. Для цього потрібно відразу після евакуації потерпілого із зони ураження облити місце опіку холодною водою, справа в тому, що навіть після припинення дії температури на тіло білки продовжують свою денатурацію і тільки охолодження водою може зупинити її.

Якщо на потерпілому горить одяг, його потрібно повалити на землю і накрити ковдрою, брезентом, пальтом, щоб припинити доступ повітря до полум'я, а потім облити водою тліючий одяг.

Після зняття одягу шкіра навколо опіку обережно очищається теплою водою з милом, чистим бензином або спиртом.

При роботі з органами, частинами органів та біологічними рідинами можливе потрапляння їх на шкіру, одяг, слизові оболонки. Всі біологічні об'єкти треба сприймати як потенційно заражені ВІЛ – інфекцією, туберкульозом та ін. інфекціями, тому згідно наказу « 120 МОЗ України від 20.05.00 розроблена перша допомога при цих випадках.

Електротравми можуть виникати при доторканні за розвід, який знаходиться під напругою. Із-за скорочення м'язів людина не може самостійно звільнитися електротравми можуть призвести до зупинки серця, дихання, ураження головного мозку. На сучасному етапі у реаніматологів достатньо методів виявлення допомоги таким потерпілим. Це і штучна вентиляція легень чистим киснем, барокамери, таке інше.

Основоположним документом у сфері охорони праці є Закон України «Про охорону праці», який визначає основні положення щодо реалізації права на охорону життя і здоров'я у процесі трудової діяльності, на належні, безпечні і здорові умови праці, регулює відносини між роботодавцем і працівником з питань безпеки, гігієни праці та виробничого середовища і встановлює єдиний порядок організації охорони праці в Україні [40].

## ВИСНОВКИ

1. Проведений огляд вітчизняних та зарубіжних літературних джерел, щодо методів дослідження пестицидів у біологічних рідинах. Основними методами є тонкошарова хроматографія (ТШХ), високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) та газорідинна хроматографія (ГХ).

2. Методом газорідинної хроматографії ідентифіковано пестицид - «Фосфамід®» у біологічних рідинах

3. Проведено кількісне визначення вмісту «Фосфаміду®» в резорбційних та елімінаційній біологічних рідинах з використанням методу газорідинної хроматографії.

4. Встановлено технологічні умови хроматографічного аналізу : градієнтне програмування температури термостата, колонки, оптимальна температура інжектора, склад і швидкість подачі елюента.

5. Проведено математичну обробку результатів дослідження та доказано їх достовірність.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Фундаментальні дослідження біологічного впливу отрутохімікатів, глибоке проникнення в організм, механізми їх дії на людей, тварин та рослини, діагностику та профілактику гострих, хронічних та смертельних отруєнь не можна здійснити у відсутності надійних методів якісного виявлення та кількісного визначення цих отруйних речовин та їх метаболітів.

Розробка та введення в експертну практику судово-хімічних чутливих методів досліджень, а саме методу газорідинної хроматографії ставлять судово-медичну експертизу отруєнь на якісно нову сходинку, з підтвердженням клініко-морфологічних даних результатами токсикологічного аналізу.

Викладені основні теоретичні положення хроматографічних методів аналізу, а саме тонкошарової, газової та високоефективної рідинної хроматографії, наведені деякі характеристики, наприклад, збільшення чутливості і точності кількісного визначення досліджуваного матеріалу, котрі можна використовувати в судовій та медичній практиці.

Усі методи хіміко-токсикологічного дослідження описані в роботі, відрізняються високою чутливістю, за їх допомогою виявляються залишкова кількість пестицидів на рівні ГДК або ДЗК, також дають можливість визначення шляху потрапляння пестициду в організм, що є важливим фактором для слідчих органів. Значно скорочують час, який необхідно використати для виявлення отруйних речовин.

Матеріали кваліфікаційної роботи магістра можна використовувати при викладанні навчальної дисципліни «Фізико-хімічні методи дослідження».

**ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ**

1. Голиков С. Н. «Актуальные проблемы современной токсикологии». *Фармакология Токсикология*. 1981. №6. с.645-650.
2. Петровський Б. В. Популярная медицинская энциклопедия. Москва : Советская энциклопедия, 1979. 1590 с.
3. Куценко С. А. Основы токсикологии. Санкт-Петербург : Медицина, 2002. 719 с.
4. Крамаренко В. Ф., Туркевич Б. М. Анализ ядохимикатов. Москва : Химия, 1978. 264 с.
5. Mohebli G. H. Inhibition of Acetyl Cholinesterase Activity Farmers Exposed to Organophosphate pesticides in Bushehz, Iran. *American-Eurasian J. of Toxicol. Scienses*. 2011. № 3 (3). P. 127-130.
6. Satoh T., Hosokawa M. Organophosphates and their impact on the global environment. *Neurotoxicology*. 2000. № 21 (1-2). P. 223-227.
7. Завальнюк А. Х., Кривда Г. Ф., Юхимець І. О. Токсикология. Одеса : Астропринт, 2009. 256с.
8. Ellenhom M. J. Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. Baltimore : Williams&Wilkins, 2003. 1024 p.
9. Koelle G. B. Pharmacology and Toxicology of organophosphates and carbonates. In: Clinical and experimental toxicology of organophosphates and carbonates. Oxford : Butterworth Heinmann, 1992. 433 p.
10. Satoh T. Organophosphates and their impact on the global environment toxicity. *Neurotoxicology*. 2014. № 2. P. 123-147.
11. Богоявленский И. Ф. Клиническая диагностика и неотложная терапия острых отравлений. Москва : МЕДпресс – информ, 2002. 128 с.
12. Богоявский В. Ф., Богоявский И. Ф. Острые отравления. Минск : Гипократ, 1999. 340с.
13. Руднев А. С. Руководство по судебно – медицинской экспертизе отравлений / под ред. Р.В.Бережного. Москва : Медицина, 1980. 415 с.

14. Мусийчук Ю. И., Куценко С. А., Бушуев Е. С., Рыбалко В. М. Врачебная экспертиза при отравлениях химическими веществами. Киев : Фолиант, 2007. 524 с.
15. Гольберт К. А. Введение в газовую хроматографию. Москва : Химия, 1990. 352 с.
16. Евгеньева И.И. Планарная хроматография и анализ органических веществ. Москва : Химия, 1999. 320 с.
17. Кирхер Ю. М. Тонкослойная хроматография. Москва : Мир, 1981. 342 с.
18. Судебно-медицинская экспертиза Научно-практический журнал 3`98 Издательство «Медицина»
19. Дженнингс В. Газовая хроматография на стеклянных колонках. / Москва : Мир, 1980. 232 с.
20. Packed Column GC Application Guide : [guide / developed by Supelco GC specialists and engineers] – Bellefonte, PA : Supelco, 1999. 98 p.
21. GC and GC/MS: [catalog and guide / developed by Agilent GC specialists and engineers] Wilmington, DE : Agilent Technologies, Inc., 2014. 324 p.
22. Reckhow D. Instrumental Analysis : Gas Chromatography [Lecture]. Amherst : University of Massachusetts Amherst. 2014. 57 p.
23. Лисенко О. М., Ковальчук Т. В., Зайцев В. М. Основы газовой хроматографії. Навчальний посібник. – Київ : Думка, 2013. 367 с.
24. Долгоносков А. М, Рудаков О. Б., Прудковский А. Г. Колоночная аналитическая хроматография : практика, теория, моделирование. Санкт-Петербург : Издательство «Лань», 2015. 468 с.
25. Другов Ю.С. Газохроматографический анализ газов. Москва : МОИМПЕКС, 1995. 464 с.
26. A Technical Guide for Static Head space Analysis Using GC: [guide / developed by Restek GC specialists and engineers] – Bellefonte, PA : Restek Corporation, 2000. 20 p.

27. Рудаков О. Б., Востреев И. А., Федоров С. В., Филиппова А. А., Семенов В. Ф., Приданцева А. А. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. Воронеж : Изд-во «Волдолей», 2004. 520с.
28. Дёрффель К. Статистика в аналитической химии. Москва : Мир, 1994. 268 с.
29. Гармаш А. В. Метрологические основы аналитической химии. Москва : МГУ, 2012. 47 с.
30. Терещенко И. В., Шевчук В. В. Справочник по лабораторной и функциональной диагностике. Пермь : Наука, 1996. 561 с.
31. ДСТ 12.3.002-75. Затверджено МЗ СРСР у 1991 р. – ССБП. Процеси виробництва. Загальні вимоги безпеки. – 120 с.
32. СНП 2.04.05-91. Затверджено наказом держкомградобудування України від 29.12.94 № 106. – опалення, вентиляція і кондиціонування. Доповнення. – 18 с.
33. Семенов А. С. Охорона праці і техніка безпеки по хімії: навч. посібник для студентів пед. Інститутів по хімії і спец. Київ : ОСВІТА, 1981. 142 с.
34. Семенов А. С. Охорона праці і техніка безпеки по хімії: навч. посібник для студентів пед. Інститутів по хімії і спец. Київ : ОСВІТА, 1981. 142 с.
35. Кодекс законів про працю України. Стаття 163 Зі змінами, внесеними в відповідно до закону № 3694- 12 від 15.12.1993. Видача спеціального одягу й інших засобів індивідуального захисту. 62 с.
36. ДНАОП 0.00-4.26-96. Затверджено наказом держнадзорохоронпраці від 29.10.96 №170 (0667–96). Положення про порядок забезпечення працівників спеціальним одягом, спеціальним взуттям і іншими засобами. 68 с.
37. ДНАОП 0.00-1.21-98. Затверджено наказом держнадзорохоронпраці від 09.01.98 №4 (0093-989). Правила безпеки експлуатації електроустановок споживачів. 20 с.



38. Природне і штучне освітлення : ДБН В.2.5-28-2006. Офіц. вид. Київ : Укрархбудінформ : Міністерство будівництва, архітектури та житлово-комунального господарства України, 2006. 78 с.
39. ДНАОП 0.00-1.21-98. Затверджено наказом держнадзорохоронпраці від 09.01.98 №4 (0093-989). Правила безпеки експлуатації електроустановок споживачів. 20 с.
40. ДНАОП 2.1.20-1.20.03-75. Затверджено наказом держнадзорохоронпраці 20.04.99 № 67. Правила охорони праці в лабораторіях. 80 с.
41. ДНАОП 0.01-1.01-95. Затверджено МВС України 14.06.95, (0219-95). Правила пожежної безпеки в Україні. 167 с.
42. Ткачук К. Н., Третьякова Л. Д., Зеркалов Д. В. Охорона праці та промислова безпека : монографія. Київ : Основа, 2014. 823 с.

## Додаток А

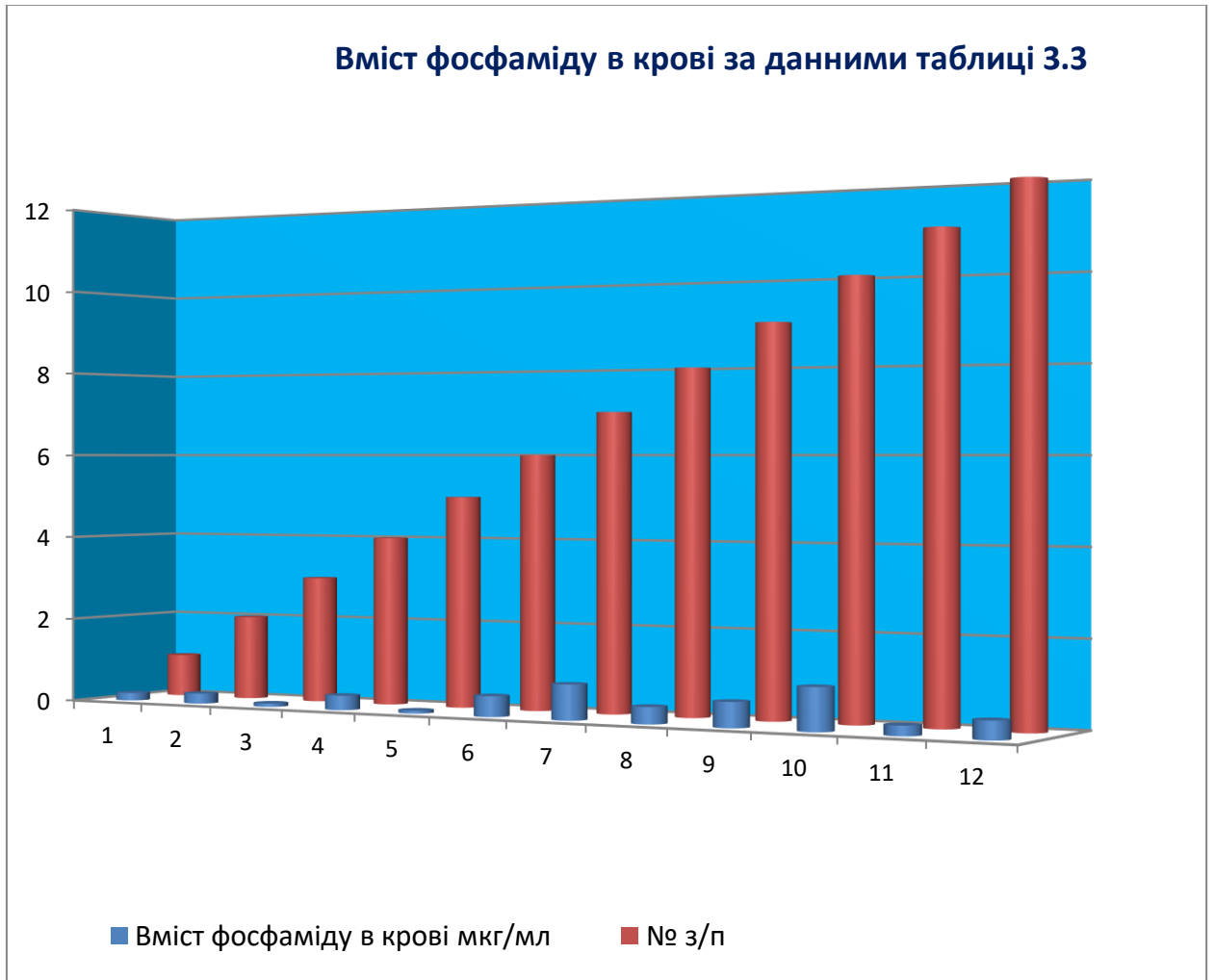


Рисунок А.1 - Вміст «Фосфаміду®» в крові за даними табл. 3.3

Продовження дод. А

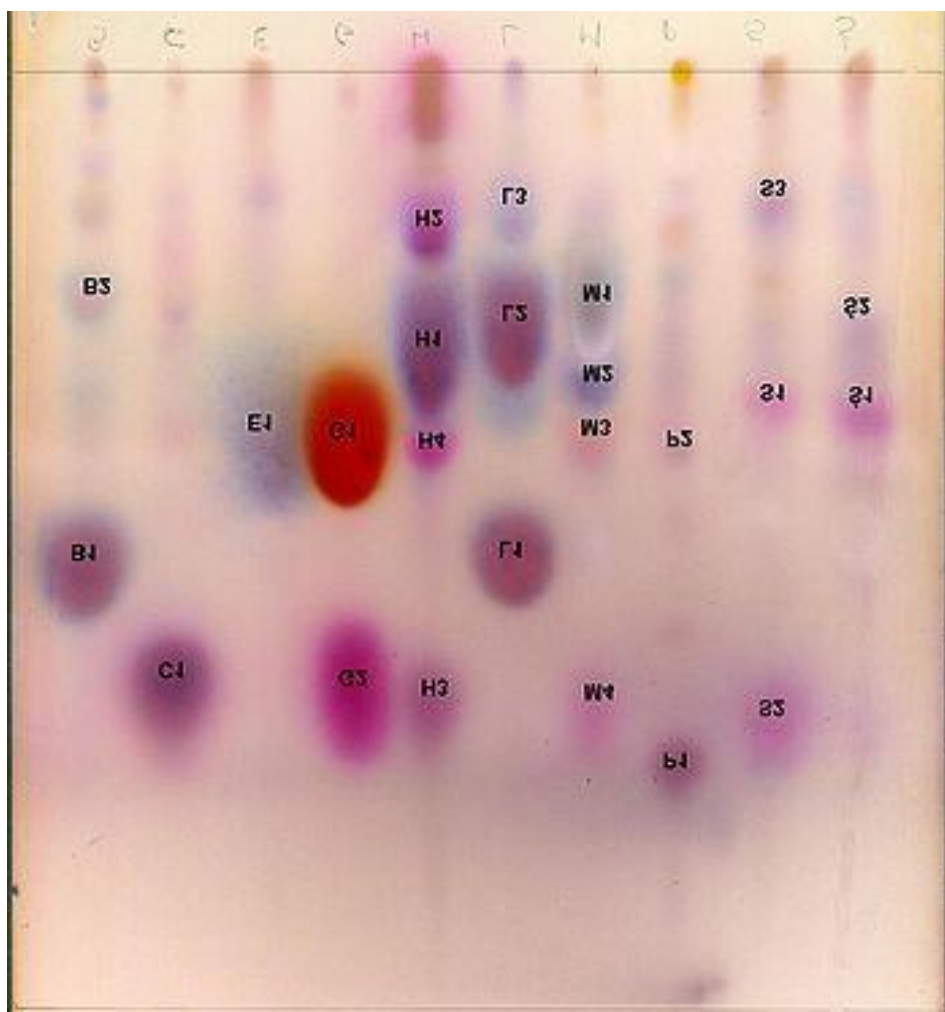


Рисунок А.2 - Зразок хроматограми ідентифікації пестицидів