

УДК 619.22.28:615.37:614.48.616.995.428:636.8

В. Л. КОВАЛЕНКО, кандидат ветеринарних наук

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ.

В. І. ТКАЧЕНКО, кандидат біологічних наук

ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок МАП України, м. Львів

РІДИННО-ХРОМАТОГРАФІЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ДЕЛЬТАМЕТРИНУ У СКЛАДІ ДЕЗІНФІКУЮЧОГО ЗАСОБУ ДІАМАНТ

У статті наведені результати досліджень по визначенню синтетичного піретроїду дельтаметрину у складі дезінфікуючого засобу діамант, та представлено набір варіантів методу контролювання.

Ключові слова: дезінфектант, дельтаметрин, метод, високоефективна рідинна хроматографія, діамант.

Сучасні вимоги для нових комплексних дезінфікуючих засобів вимагають принципово нових підходів до їх розробки, здатних забезпечити профілактичний пролонгований захист приміщень тваринницьких, м'ясопереробних підприємств та підприємств по виготовленню молочних продуктів від поширення інфекційних та паразитарних захворювань, для того, щоб їх можна було терміново застосувати при змішаних захворюваннях у господарствах навіть без діагностики хвороби й ідентифікації збудників у вогнищах інфекції. Це дало б можливість використання дезінфектантів проти паразитарних хвороб, які зустрічаються майже на всіх підприємствах та господарствах [1, 2, 3]. Аналіз літературних джерел свідчить, що, незважаючи на велику кількість запропонованих препаратів, проблема розробки більш ефективних дезінфікуючих засобів залишається актуальною. При цьому необхідно враховувати, що нові комплексні препарати повинні мати високі акарицидні властивості, бути екологічно безпечними та економічно вигідними.

З цією метою лабораторією захисту молодняка ІВМ НААН України було розроблено новий дезінфікуючий засіб діамант, активний відносно мікроорганізмів та паразитів, до складу якого входять: поверхнево-активні речовини (ПАР), детергенти – четвертинні амонієві сполуки (ЧАС), яким властива пролонгована дія з високим рівнем змочуючого контакту з обробленими поверхнями в комплексі з синтетичним піретроїдом – дельтаметрином. Препарати на основі синтетичних піретроїдів мають кращі санітарно-гігієнічні характеристики та є високоефективними для лікування тварин при ентомозах і акарозах [4]. Піретроїди мають не тільки інсектоакарицидну, але і інші види біологічної активності. Додатковими позитивними ефектами застосування піретроїдів є репелентність та фунгіцидність [5, 6, 7]. Препарат діамант дасть можливість більш повного задоволення потреб тваринницьких, м'ясо- та молокопереробних підприємств у засобах підтримання відповідного санітарно-гігієнічного режиму.

Застосування нового комбінованого препарату з іншими сполуками запобігає розвитку резистентності у шкідливих ектопаразитів після тривалого використання піретроїдів та дезінфекційних речовин. Підсилює лікування шкіряного покриву та усунення вторинної бактеріальної інфекції.

Встановлено, що дезінфікуючий засіб діамант проявляє високу активність щодо бактерій *Streptococcus* і *Staphylococcus*, що забезпечує його ефективність при обробці тварин із захворюваннями, викликаними цими мікроорганізмами [8].

Для впровадження даного препарату у виробництво і «виведення» його на ринок необхідне сучасне методичне забезпечення контролю його якості на етапах виготовлення, реалізації і використання. Найбільш поширеним на даний час методом контролю фармацевтичних препаратів, який відповідає сучасним міжнародним вимогам до аналітичних методів є високоефективна рідинна хроматографія [10, 11, 12]. Існують методи рідинної хроматографії для визначення масової частки дельтаметрину в інсектицидних препаратах: лаках, аерозолях, дустах, гелях або інших інсектицидних формах [7, 8, 9]. Наприклад, спосіб визначення дельтаметрину у препараті permanet® методом високоефективної рідинної хроматографії, який складається із кількох етапів: екстракції дельтаметрину із препарату сумішшю ізооктану та 1,4-діоксану, хроматографічному розділенні проби у режимі прямої фази та детекції поглинання в ультрафіолетовій ділянці спектру при $\lambda = 236$ нм. Цей спосіб розроблений спеціально для препарату permanet®. Дезінфікуючий засіб діамант суттєво відрізняється від препарату permanet® за складом і інсектицидною формою і тому зазначений прототип не може бути безпосередньо використаний для визначення дельтаметрину у деззасобі діамант.

Мета даної роботи полягала у розробці рідинно-хроматографічного методу визначення синтетичного піретроїду дельтаметрину в складі дезінфікуючого засобу діамант.

Матеріал та методи досліджень.

Об'єктом досліджень був дезінфікуючий засіб діамант, до складу якого входять діюча речовина бензалконію хлорид та інсектоакарацидна речовина дельтаметрин. Дезінфікуючий засіб діамант є прозорою рідиною світло-жовтого кольору. Засіб добре розчинний у воді, має мийні властивості для різних поверхонь, без пошкоджуючого ефекту, не викликає корозії металів.

Використовували наступні матеріали та обладнання: система високоефективної рідинної хроматографії фірми Knauer™ (Німеччина), споряджена оптичним детектором «Knauer™ variablewavelengthmonitor»; колонки хроматографічні: Partisil™ ODS 3 (250 × 4,0) мм; Nova-Pak Silica (150 × 3,9) мм; Lichrospher™ 100-5 Si (250 × 4,0) мм; Nucleosil™ 100 C₆H₅ (250 × 4,0) мм; Nucleosil™ 100 CN (250 × 4,0) мм; Nucleosil™ 100 SB (250 × 4,0) мм; терези аналітичні за ГОСТ 24104; дельтаметрин у сертифікований стандартний зразок; кислота фосфатна ч.д.а.; спирт метиловий для хроматографії; Н-гептан для хроматографії; ізооктан для хроматографії; діоксан для хроматографії; етилацетат для хроматографії; фільтри мембранні PREPOR-PES™ (DomnickHunter) розміром пор 0,45 мкм; вода очищена Р, згідно ДФУ 1.1 с. 308; посуд лабораторний.

Інтегрування хроматографічних піків і обрахунки хроматографічних показників проводили у відповідності з вимогами Європейської фармакопеї, використовуючи комп'ютерну програму Eurochrom®.

Для досягнення поставленої мети проводили декілька серій хроматографічних аналізів, змінюючи склад рухомої і нерухомої фаз. Оскільки засіб діамант окрім дельтаметрину містить ще діючу речовину бензалконій і інші допоміжні речовини, основною вимогою було досягнення задовільного розділення хроматографічних піків при визначенні дельтаметрину у присутності даних речовин.

Стартові умови рідинно-хроматографічного аналізу підбирали, виходячи із фізико-хімічних властивостей дельтаметрину (розчинність, спектр оптичного поглинання, тощо). Широкий діапазон розчинності препарату і його компонентів у розчинах із додаванням неполярних сполук, а також у водно-спиртових рухомих фазах, дозволили використати найпростішу підготовку проб до аналізу, без етапу екстракції, що здешевшує і прискорює проведення аналізу.

Результати досліджень та обговорення. Як видно з представлених даних (табл. 1, 2), досліджені варіанти умов хроматографічного аналізу дезінфікуючого засобу діамант забезпечують достатньо широкий вибір для наступної оптимізації методу контролювання якісного і кількісного складу даного препарату на хроматографічному обладнанні інших виробників.

Таблиця 1.

Варіанти нерухомої/рухомої фаз, випробувані при дослідженні умов хроматографічного розділення деззасобу діамант

№ варіанту	Нерухома фаза	Склад рухомої фази
1.	Partisil™ ODS(250 × 4,0) мм	Метанол:вода (80:20)
2.	Lichrospher™ 100-5 Si (250 × 4,0) мм	Ізооктан:діоксан (95:5)*
3.	Nova-Pak Silica (150 × 3,9) мм	Н-гептан: етилацетат (97:3)*
4.	Nucleosil™ 100 C ₆ H ₅ (250 × 4,0) мм	Н-гептан: етилацетат: MetOH (5:50:45)
5.	Nucleosil™ 100 CN (250 × 4,0) мм	Н-гептан: етилацетат: MetOH (5:50:45)
6.	Nucleosil™ 100 SB (250 × 4,0) мм	Метанол: вода (1:99)

* – Препарат погано розчиняється у рухомій фазі такого складу, тому його попередньо розчиняли у дихлорметані або метанолі.

Таблиця 2.

Основні показники хроматографічного дослідження деззасобу діамант за різних варіантів умов

№ варіанту	Час виходу хроматографічного піка дельтаметрину (хв)	Симетрія піку (Т)	Розділення	Ефективність хроматогр. системи
1.	5,2	5,1	3,68	350
2.	6,4	1,35	1,48	2440
3.	7,8	1,08	9,47	3320
4.	9,0	1,43	1,4	1400
5.	4,5	1,20	1,06	300
6.	5,2	1,08	2,8	900

Можуть бути обрані варіанти умов аналізу із часом виходу піка дельтаметрину у межах від 5 до 10 хв при щадній швидкості проходження елюента через колонку (0,5 мл/хв). Достатня величина фактору розділення спостерігалась у всіх варіантах. У п'яти із шести досліджених варіантів умов аналізу симетрія хроматографічного піку дельтаметрину є задовільною. Що стосується ефективності хроматографічної системи, то за умов задовільного розділення піків вона набуває другорядну роль і вказує на вищу або нижчу імовірність одержання задовільних результатів аналізу при заміні хроматографічних колонок на аналогічні, але одержані від інших виробників. Слід зазначити, що для поліпшення відтворюваності методу в інших лабораторіях і на іншому обладнанні, дані дослідження проводились не на нових хроматографічних колонках. При використанні нових колонок можна очікувати підвищення показника ефективності хроматографічної системи в цілому.

Висновок.

Запропоновано і досліджено декілька варіантів умов рідинно-хроматографічного визначення (нерухома фаза/рухома фаза) ідентичності та кількісного вмісту синтетичного піретроїду дельтаметрину у новому дезінфікуючому засобі діамант. Показана придатність досліджених варіантів методу вискоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) для визначення ідентичності та кількісного вмісту синтетичного піретроїду дельтаметрину у новому дезінфікуючому засобі діамант. Результати проведених валідаційних досліджень із використанням критеріїв прийнятності із значенням допусків вмісту $\pm 5,0$ % підтверджують специфічність, лінійність, збіжність, правильність, діапазон застосування та внутрішньолабораторну відтворюваність запропонованих варіантів методик. Широкий вибір варіантів умов рідинно-хроматографічного аналізу деззасобу діамант дозволить проводити контроль даного препарату у різних лабораторіях, споряджених хроматографічним обладнанням від різних виробників і може служити основою для розробки методів контролю майбутніх нових препаратів із вмістом дельтаметрину.

1. Коваленко В. Л. Проблеми безпечного виробництва та використання бактерицидних засобів / В.Л. Коваленко // Ветеринарна біотехнологія. – К.: Бюлетень, – 2011. – №18. – С. 98–105.

2. Коваленко В. Л. Актуальні проблеми застосування дезінфікуючих препаратів / В.Л. Коваленко // – К.: Ветеринарна біотехнологія. – К.: Бюлетень, – 2008. – №12. – С. 78–91.

3. Дельтаметрин. Гигиенические критерии состояния окружающей среды 97// Всемирная орг. Здравоохранения. Женева. –1997. –110 с.

4. Эффективность применения препаратов на основе синтетических пиретроидов и ФОС при энтомозах и арахнозах животных / Б.А. Фролов [и др.] // Ветеринария. – 1994. – № 7. – С. 31–33.

5. Dobrin G.Ch. The antifeeding activity of selected pyrethroids towards the Mexican bean beetle (Coleopter: Coccinellidae) / G.Ch. Dobrin, R.B. Hammond // J. Kans. Entomol. Soc. – 1985. – Vol. 58, № 13. – P. 422–427.

6. Gist G.L. Ovicidal activity and ovipositional repellent properties of synthetic pyrethroids to the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* / G.L. Gist, Ch.D. Pless // Fl. Entomol. – 1985. – Vol. 68, № 3. – P. 462–466.

7. Hackler R.W. Sarcoptic mange in a dog transmitted to human/ R.W. Hackler // Mod. Veter. – 1971. – Vol. 21 (28). – P. 12–14.
8. Коваленко В.Л. Визначення бактерицидної активності дезінфектанта діамант. /Коваленко В.Л., Ященко М.Ф., Чехун А.І. Ветеринарна біотехнологія. Бюлетень. №12.–К.– 2008.–С.91–94.
9. Особенности определения дельтаметрина в биологических жидкостях / Е.Н. Чигарёва [и др.]. Фармация. №8.–2010.–С.19–22.
10. Рідинна хроматографія // Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 47-49.
11. Методи хроматографічного розділення // Державна Фармакопея України / ДП „Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – С. 78-84.
12. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / ДП „Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-е вид. – Доповнення 2. – Харків: ДП „Науково-експертний фармакопейний центр”, 2008. – С. 448–449.

**ЖИДКОСТНО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
ДЕЛЬТАМЕТРИНУ В СОСТАВЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА
ДИАМАНТ/ В.Л. Коваленко, В.И. Ткаченко**

В статье приведены результаты исследований по определению синтетического пиретроида дельтаметрина в составе дезинфицирующего средства диамант и представлен набор вариантов метода контролирования.

Ключевые слова: дезинфектант, дельтаметрин, метод, высокоэффективная жидкостная хроматография, диамант.

**LIQUID-CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF DELTAMETHRIN
WHICH COMPOSED OF DISINFECTANT DIAMOND / V.L.Kovalenko, V.I. Tka-
chenko**

This article describes the results of studies of determination the synthetic pyrethroid deltamethrin in the disinfectant diamond and provides a set of variants of the control.

Keywords: disinfectant, deltamethrin, method, high-performance liquid chromatography, diamond.

Рецензент – доктор ветеринарных наук В. А. Синицин