

УДК 543.068.8

К.А. Бакай, И.С. Нестеренко, А.Д. Прийма, В.А. Сафронова  
Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение  
«Всероссийский Государственный Центр Качества и Стандартизации  
Лекарственных Средств для Животных и Кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»),  
Москва, Россия

## **РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИФОСАТА В ПИТЬЕВОЙ ВОДЕ МЕТОДОМ ИНГИБИТОРНОГО АНАЛИЗА**

Глифосат – это широкодиапазонный неизбирательный гербицид, используемый для борьбы с однолетними и многолетними сорняками при выращивании сельскохозяйственных культур (в том числе ГМО, содержащими ген устойчивости к глифосату), отнесен в группу веществ «потенциально канцерогенных для человека» (группа 2А) [1].

Широкое использование гербицидных препаратов на основе глифосата привело к тому, что его остаточные количества попадают не только в пищевую продукцию, но и в объекты окружающей среды: подземные и поверхностные воды, почву, воздух и морскую воду.

В Российской Федерации предельно допустимая концентрация/ориентировочный допустимый уровень глифосата в воде составляет 20 мкг/л [2]. В других странах допустимые уровни глифосата сильно варьируются от 0,1 мкг/л в Европейском союзе до 1000 мкг/л в Австралии.

Основными аналитическими методами обнаружения глифосата в воде являются хроматографические методы с различными видами детекции: масс-спектрометрической, флуоресцентной и др. Большинство этих методик очень чувствительны, но они нуждаются в стадии дериватизации с предварительной длительной пробоподготовкой. Таким образом, в настоящее время активно разрабатываются альтернативные скрининговые методы определения глифосата.

Цель данной работы заключалась в разработке экспрессной методики определения глифосата в питьевой воде.

Известно, что в основе механизма действия многих пестицидов и гербицидов лежит ингибирование различных ферментов растений, насекомых и других организмов, против которых направлено действие препарата.

Существует несколько ферментов, широко используемых для обнаружения пестицидов, таких как ацетилхолинэстераза, бутирилхолинэстераза, щелочная фосфатаза, фосфорорганическая гидролаза, тирозиназа и пероксидаза хрена. Реализация простых аналитических

протоколов в сочетании с методами оптической спектроскопии дает преимущества по сравнению с другими методами: простота, надежность и низкий расход реагентов. Также метод, основанный на ингибировании ферментов требует минимального объема реагентов/образцов, что делает их очень удобными для разработки аналитических методик [3].

Одной из задач настоящей работы являлось изучить возможность применения процесса ингибирования пероксидазы хрена глифосатом для анализа природных вод. Принцип методики заключается в измерении активности пероксидазы хрена в отсутствие и присутствии глифосата.

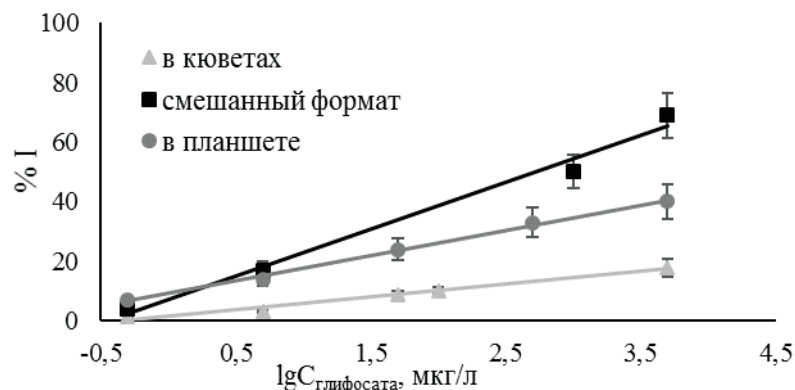
В работе было протестировано три формата измерения:

1. Весь анализ проводился в 96-луночных планшетах
2. Реакция ингибирования проводилась в пробирках типа Эппендорф с последующим измерением активности в 96-луночных планшетах
3. Реакция ингибирования и реакция превращения субстрата проводились в 15 мл полипропиленовых пробирках с последующим измерением оптической плотности в кварцевых кюветах спектрофотометра.

Процент ингибирования (%I) рассчитывали, используя значения поглощения в присутствии ( $I_1$ ) и в отсутствии ( $I_0$ ) глифосата, согласно уравнению:

$$\%I = \frac{(I_0 - I_1)}{I_0} \times 100\%$$

Для каждого формата был построен градуировочный график зависимости процента ингибирования от логарифма концентрации глифосата (Рисунок 1)



**Рисунок 1 - Градуировочные графики для определения глифосата в трех форматах проведения реакции ингибирования: 1) в кварцевых кюветах; 2) в смешанном формате; 3) в планшетном формате**

Для обсчета зависимостей был использован метод наименьших квадратов. Для каждого формата были рассчитаны параметры кривых, пределы обнаружения и количественного определения (Таблица 1)

**Таблица 1 – Параметры линейных зависимостей, рассчитанных по методу наименьших квадратов ( $y=ax+b$ ) и пределы обнаружения и количественного определения**

Формат анализа	R <sup>2</sup>	a	b	Предел обнаружения, мкг/л N=20 P= 0,95	Предел количественного определения, мкг/л N=20 P= 0,95
В кюветах	0,980	4,332	1,421	95,5	1362,4
Смешанный	0,986	15,700	7,145	1,5	3,2
В планшете	0,996	8,500	9,159	1,3	4,9

Из полученных результатов видно, что наибольшая чувствительность достигается при использовании смешанного формата. В результате были выбраны следующие условия проведения анализа:

Реакция ингибирования проводится в течение 20 минут;

Концентрации ТМБ и перекиси водорода составили 0,5 мМ и 0,25 мМ соответственно;

Время инкубации с рабочим раствором субстрата – 5 минут.

Объектом анализа была выбрана питьевая вода. Пробы воды были отобраны в разных районах Москвы и Московской области. В качестве контрольных образцов применялись дистиллированная и деионизованная вода. Предварительно все образцы были проанализированы методом ВЭЖХ–МС/МС. Приготовленные образцы с добавками были проанализированы по разработанной методике. По полученным значениям ингибирования было рассчитано предполагаемое содержание глифосата в образцах, которое сравнивали с реальными значениями. Процент открытия глифосата находился в пределах 75–119%. С увеличением добавленной концентрации процент открытия несколько возрастал. Коэффициент вариации не превышал 20%.

Таким образом, была разработана методика ингибиторного анализа для определения глифосата в питьевой воде. Предел количественного определения составил 3,2 мкг/л. Анализ с учетом подготовки пробы занял 35 минут.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. IARC, Monographs Volume 112: evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides (accessed Mar. 20, 2015).
2. СанПиН 1.2.3685-21 "Гигиенические нормативы и требова-

ния к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания", утв. 28 января 2021 года №2

3. Bouzada, L. M. E. I. Glyphosate detection from commercial formulations: comparison of screening analytic methods based on enzymatic inhibition / L. M. E. I. Bouzada, S. R. Hernández, S. V. Kergaravat // International Journal of Environmental Analytical Chemistry. – 2019. – 1–15. doi:10.1080/03067319.2019.1691176

УДК 54.056

И.В. Смирнов, П.В. Смирнова, А.Ю. Тетерина,  
С.М. Баринов, В.С. Комлев  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова  
Российской академии наук, Москва, Россия

## **ПОЛУЧЕНИЕ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ДИКАЛЬЦИЙ ФОСФАТ ДИГИДРАТА И ОКТАКАЛЬЦИЙФОСФАТА ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ДЕФЕКТОВ КОСТНОЙ ТКАНИ**

Существует широкий спектр материалов, применяемых при замещении дефектов костной ткани, среди которых изделия на основе фосфатов кальция (ФК) являются ключевыми. Относительная простота их получения в совокупности с дешевизной, возможностью наработки большого количества материала, а так же хорошими биологическими свойствами, способствуют постепенному переходу от алло- и аутографтов к синтетическим материалам. В последнее время тенденции в исследовании таких материалов направлены на низкотемпературные вариации ФК, а именно дикальцийфосфат дигидрат (ДКФД) и октакальцийфосфат (ОКФ). Данные ФК считаются наиболее перспективными благодаря их способности к трансформации в биологический гидроксилапатит в условиях организма, а так же остеокондуктивными и остеоиндуктивными свойствами. Создание новых материалов для регенеративной медицины является актуальной задачей, так как напрямую влияет на качество жизни людей. Новые подходы в создании синтетических заменителей кости позволяют лечить более широкий спектр заболеваний, увеличивают скорость и качество выздоровления (1,2).

Работа с ДКФД и ОКФ ограничена их метастабильными свойствами, разложением или фазовыми трансформациями при темпера-