

О.М. Коршун

АНАЛІТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЕКОЛОГО-ГІГІЄНИЧНОГО МОНІТОРИНГУ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ ІМІДАЗОЛІНОВИХ ГЕРБИЦИДІВ

Інститут гігієни та екології
Національного медичного університету імені О.О. Богомольця
м. Київ

Ключові слова: імідазолінонові гербіциди, високоефективна рідинна хроматографія, об'єкти навколишнього та виробничого середовища

Key words: imidazolinone herbicides, high-performance liquid chromatography, environmental objects, objects of working environment

Резюме. Разработаны высокочувствительные и селективные методы определения имазетапира, имзапира и имзамокса с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии. Методы основаны на экстракции гербицидов из проб, очистке экстрактов от коэкстрактивных веществ и дальнейшем хроматографическом определении. Пределы количественного определения соединений позволяют контролировать соблюдение их гигиенических нормативов в объектах окружающей и производственной среды. Внедрение официально утвержденных методических указаний по определению имазетапира, имзапира и имзамокса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в практику работы учреждений санитарно-эпидемиологической службы и Министерства охраны окружающей природной среды Украины способствует контролю за применением в сельском хозяйстве препаратов на их основе, усовершенствованию мониторинга пестицидов в окружающей природной среде и разработке мероприятий по минимизации их неблагоприятного действия на здоровье населения.

Summary. Highly-sensitive and selective methods of determination of imazethapyr, imazapyr and imazamox using high-performance liquid chromatography were developed. The methods are grounded on extraction of herbicides out of tests, rectification of extracts from coextract substances and further chromatography determination. Thresholds of quantitative detection of these compounds makes it possible to control observance of hygienic norms in the environmental objects and objects of working environment. Introduction of the officially ratified methodical directions on determination of imazethapyr, imazapyr and imazamox by the method of high-performance liquid chromatography into the of work of sanitary-epidemiological service establishments and Ministry of Guard of Natural Environment of Ukraine promotes to control application of preparations made on their basis, in agriculture to the improvement of monitoring of pesticides in the natural environment and development of measures on minimization of their unfavorable action on the population's health.

Похідні імідазолінону є одним із найбільш перспективних класів гербіцидів, які останнім часом активно впроваджуються в сільськогосподарську практику [20]. Вони, як і деякі інші представники гербіцидів нового покоління – інгібіторів ацетолактатсинтетази, вигідно відрізняються високою ефективністю при низьких нормах витрат (від 0,01 до 1,0 кг/га) та малій токсичності для теплокровних організмів [15].

Гербіциди – похідні імідазолінону знаходять усе більше застосування як за кордоном, так і в Україні. Зокрема, у Приморському краї Російської Федерації лише у 2002 році препаратом Півот, в.р.к. було оброблено 49 тис. га посівів сої; додатковий збір урожаю склав 8,1–8,7 ц/га

[10]. Застосування цього препарату на Кубані зумовило збільшення врожаю сої в середньому на 7,1 ц/га [7]. В Україні обсяги застосування препарату Півот, в.р.к. на посівах гороху та сої зросли з 7,28 т у 1999 р. до 56,28 т у 2004 р. [5]. Використання гербіциду Пульсар, 40 в.р. зумовило додатковий збір урожаю сої 6,6–8,3 ц/га [1].

Розробка гербіцидів цього класу розпочалась у 80-х роках ХХ століття фахівцями фірми Ціанамід, США. В хімічній структурі одного із перших імідазолінонових гербіцидів – імазаметабензу – імідазоліноновий цикл поєднаний з метата паратолуатами. Введенням в імідазоліноновий цикл радикалу – незаміщеного нікотинату – отримали імазапір – діючу речовину (д.р.) пре-

парату Арсенал, в.к. [18]. Введення етилового радикалу в піридинове кільце призвело до появи нового гербіциду з дещо іншим спектром дії – імазетапіру [17]. В Україні на основі імазетапіру дозволено до використання 13 препаративних форм, у тому числі Півот, в.р.к. [9]. Однією з останніх сполук з класу імідазолінонів з алкільним (метокси-метиловим) радикалом у нікотинаті є імазамокс – д.р. препарату Пульсар, в.р. та комбінованого препарату Євро-лайтнінг, в.р., до складу якого входить також імазапір. Імідазолінонові гербіциди застосовують для захисту посівів сої, гороху, соняшнику, люцерни від бур'янів та для обробки земель несільськогосподарського користування від бур'янів та дерево-чагарникової рослинності.

В Україні для імазапіру, імазетапіру та імазамоксу науково обґрунтовані та затверджені у чинному порядку допустима добова доза та гігієнічні нормативи в об'єктах виробничого та навколишнього середовища – повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді та ґрунті [6]. Для дієвого контролю за умовами праці та станом довкілля при застосуванні препаратів на їх основі необхідні достатньо чутливі та специфічні аналітичні методи визначення.

Враховуючи зазначене, метою нашого дослідження була розробка хроматографічних методів аналітичного визначення імазапіру, імазетапіру та імазамоксу в об'єктах виробничого та навколишнього середовища.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктами дослідження були гербіциди імазапір, імазетапір та імазамокс. Хімічні назви, структурні формули та фізико-хімічні властивості досліджуваних сполук наведені у таблиці 1.

Розробку хроматографічних методів аналітичного визначення імідазолінонових гербіцидів здійснювали у 3 етапи:

1. Обґрунтування вибору хроматографічного методу визначення.

2. Розробка методів якісної ідентифікації та кількісного визначення імазапіру, імазетапіру та імазамоксу.

3. Визначення екстрагентів та способів очищення екстрактів проб повітря, води та ґрунту.

При розробці аналітичних методів визначення досліджуваних сполук використовували хімічні реактиви кваліфікації „хімічно чистий”, „чистий для аналізу” та „хімічно чистий для високоефективної рідинної хроматографії”. Як зовнішні стандарти використовували аналітичні стандарти імазапіру, імазетапіру та імазамоксу з вмістом діючої речовини 99,4; 99,7 та 99,5 % відповідно.

Вихідні розчини досліджуваних речовин містили 100 мкг сполуки у 1 мл розчинника (ацетонітрилу). Шляхом послідовного розведення вихідного розчину ацетонітрилом готували робочі градувальні розчини: для імазапіру та імазамоксу – з концентраціями 10; 8; 4; 2 та 1 мкг/мл, для імазетапіру – з концентраціями 5; 4; 2; 1 та 0,5 мкг/мл.

Хроматографічний аналіз досліджуваних гербіцидів проводили на рідинному хроматографі виробництва фірми «Шімадзу» (Японія). Після вибору оптимальної чутливості хроматографування кожного градувального розчину проводили тричі для побудови графіку залежності висоти хроматографічного піку досліджуваного гербіциду від його концентрації.

Ідентифікацію імазапіру, імазетапіру та імазамоксу в екстрактах проб повітря, води та ґрунту проводили відповідно до часу утримування сполук в градувальних розчинах, кількісне визначення – за залежністю висоти хроматографічного піка пестициду від його масової концентрації в градувальному розчині, яку встановлювали на підставі кореляційного та регресійного аналізів.

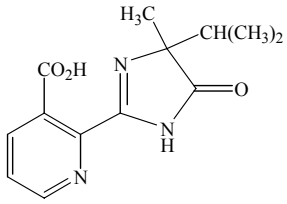
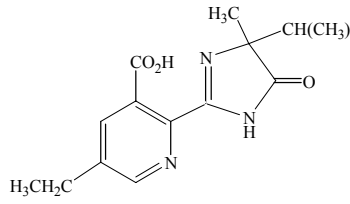
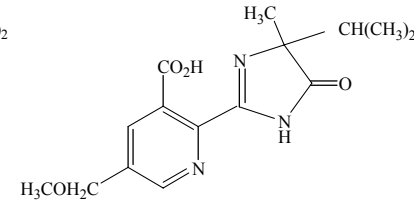
РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Враховуючи фізико-хімічні властивості досліджуваних сполук (табл. 1), а саме низьку леткість, молекулярну масу (< 3000 г/моль) та кращу розчинність у полярних (метанол, ацетон), ніж у неполярних (гексан, гептан) розчинниках, серед усіх хроматографічних методів ми обрали метод оберненофазової високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Для отримання адекватних результатів визначення досліджуваних сполук необхідно було встановити оптимальні умови хроматографування імазапіру, імазетапіру та імазамоксу, а саме найбільш чутливий та селективний детектор, придатні нерухому та рухому фази, швидкість потоку рухомої фази, мінімальну кількість речовини, що детектується, та лінійний діапазон детектування.

При оберненофазовій хроматографії нерухома фаза неполярна, рухома – дуже полярна (наприклад, водні розчини ацетонітрилу чи метанолу). Найпоширенішою нерухомою фазою є обернена фаза C_{18} , яку використовують для розділення як неполярних, так і полярних водорозчинних та малополярних сполук. Тому як нерухому фазу ми використали Нуклеосил 100-5 C_{18} , яким була заповнена сталева колонка довжиною 25 см, внутрішнім діаметром 4,6 мм.

Фізико-хімічні властивості досліджуваних імідазолінонових гербіцидів [17]

Ознака	Діюча речовина		
	імазапір	імазетапір	імазамокс
Назва за ІЮПАК	2-(4-ізопропіл-4-метил-5-оксо-2-імідазолін-2-іл)нікотинова кислота	(RS)-5-етил-2-(4-ізопропіл-4-метил-5-оксо-2-імідазолін-2-іл)нікотинова кислота	(RS)-2-(4-ізопропіл-4-метил-5-оксо-2-імідазолін-2-іл)-5-метоксиметилнікотинова кислота
Хімічна формула			
Емпірична формула	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₃	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₄
Молекулярна маса, г/моль	261,3	289,3	305,3
Температура плавлення, °C	169–173	169–173	166–166,7
Тиск насиченої пари, Па	<1,3×10 ⁻⁵ (60 °C)	<1,3×10 ⁻⁵ (60 °C)	<1,3×10 ⁻⁵ (25 °C)
Коефіцієнт розподілу н-октанола/вода, logK _{ow}	0,11 (22 °C)	1,49 (25 °C)	-2,4
Розчинність у воді (25 °C), г/л	11,3 (25 °C)	1,4 (25 °C)	4,16 (20 °C)
Розчинність в органічних розчинниках, г/л	метанол – 105 ацетон – 33,9 гексан – 0,0095	метанол – 105 ацетон – 48,2 гептан – 0,9	метанол – 67 ацетон – 29,3 гексан – 0,007

На ефективність розділення речовин істотно впливає вибір елюенту. При підборі рухомої фази для хроматографічного розділення досліджуваних імідазолінонових гербіцидів ми випробували суміші ацетонітрил–вода, ацетонітрил–водні розчини ортофосфорної кислоти у різних за об'ємом співвідношеннях. У табл. 2 наведені рухомі фази, які визначені нами як оптимальні для елюювання досліджуваних сполук.

Спектри більшості пестицидів характеризуються поглинанням в ультрафіолетовій (УФ) зоні, а розчинники, що зазвичай використовуються в оберненофазовій ВЕРХ (метанол, ацетонітрил, вода), прозорі для УФ випромінювання [2, 14]. Тому для визначення досліджуваних гербіцидів ми використовували УФ детектор з дейтерієвою лампою.

Для встановлення оптимальної чутливості, мінімальної кількості кожної сполуки, що детектується, та лінійного діапазону детектування в інжектор хроматографа з петлею 20 мкл вводили градуювальні розчини імазапіру, імазетапіру та імазамоксу з різними концентраціями, почи-

наючи з максимальної. Аналіз проводили при кімнатній температурі колонки.

Розроблені нами оптимальні умови визначення імазапіру, імазетапіру та імазамоксу методом ВЕРХ узагальнені в табл. 2.

Хроматографічне розділення та детектування імідазолінонів, як і інших пестицидів, є важливим етапом методики виконання вимірювань. У той же час для одержання достовірних результатів якісного та кількісного визначення пестициду в об'єктах виробничого та навколишнього середовища не менш важливими є попередні стадії підготовки проби, а саме екстракція сполуки з проби та очистка отриманого екстракту від коекстрактивних речовин. Тому одним із завдань нашого дослідження була розробка способів підготовки проб повітря, води та ґрунту до подальшого хроматографічного визначення в них досліджуваних гербіцидів.

Одним із найпоширеніших методів вилучення пестицидів із різних матриць залишається рідинна екстракція, яка характеризується універсальністю, нетривалістю операцій, експресністю

та не призводить до руйнації досліджуваних компонентів [2, 13]. Одержані екстракти, крім досліджуваної сполуки, містять значну кількість домішок, які ускладнюють подальше хроматографічне визначення та детектування. Коекстрактивні речовини призводять до появи сторонніх піків на хроматограмі, які можуть маскувати пестицид, що визначається [2, 12]. Цим зумов-

лена необхідність очищення екстрактів, для чого застосовують різноманітні фізичні та хімічні методи: вакуумну сублимацію, різні види хроматографії, перерозподіл між двома рідинами, що не змішуються, обробку кислотами або лугами, охолодження екстракту, вибір яких залежить від природи досліджуваної речовини та супутніх домішок [2, 16].

Таблиця 2

Умови визначення імідазолінонових гербіцидів методом ВЕРХ

Характеристика методу визначення	Умови хроматографування		
	імазапір	імазетапір	імазамокс
Тип детектора	ультрафіолетовий		
Довжина хвилі детектування, нм	230	254	230
Колонка, розміри, мм	хроматографічна сталевая, 250×4,6		
Нерухома фаза	Нуклеосил 100-5 C ₁₈		
Температура колонки, °С	кімнатна		
Рухома фаза	ацетонітрил – 0,1 % водний розчин ортофосфорної кислоти (70+30, об.+об.)	ацетонітрил – 0,2 % водний розчин ортофосфорної кислоти (45+40, об.+об.)	ацетонітрил – 0,1 % водний розчин ортофосфорної кислоти (375+625, об.+об.)
Об'ємна витрата рухомої фази, мл/хв.	0,5		
Чутливість, одиниці абсорбції на шкалу	0,04	0,013	0,015
Час утримування, хв.	4,8–4,9	6,3–6,4	7,3–7,4
Об'єм, що хроматографується, мкл	20		
Мінімальна кількість, що детектується, нг	20	10	20
Лінійний діапазон детектування, нг	20–200	10–100	20–200
Залежність висоти хроматографічного піку гербіциду (відносні одиниці) від його концентрації у градуовальному розчині (мкг/мл)	$y = -35,30 + 199,86x$	$y = -20,15 + 394,81x$	$y = -27,90 + 185,01x$

При опрацюванні методик визначення імазетапіру та імазамоксу в повітрі робочої зони та атмосферному повітрі використовували рідинну екстракцію із сорбційного матеріалу (фільтр „синя стрічка”) ацетоном (імазетапір) та 0,1 М водним розчином хлороводневої кислоти з наступною переекстракцією у хлороформ (імазамокс).

З проб води, після їх підкислення сірчаною кислотою, імазетапір та імазамокс екстрагували хлороформом.

Досліджувані імідазолінони з проб ґрунту вилучали сумішшю ацетон–0,05 М водний розчин кальцію хлориду. Отримані екстракти очищали, регулюючи рН, перерозподілом у трьох

системах розчинників, що не змішуються: 1) суміш ацетон–0,05 М водний розчин кальцію хлориду, підкислена до рН 2, → хлороформ; 2) хлороформ → 50 % водний розчин натрію гідрокарбонату; 3) 50 % водний розчин натрію гідрокарбонату, підкислений до рН 2, → хлороформ.

Розроблені нами оптимальні умови екстракції, очищення та хроматографічного визначення імідазолінонових гербіцидів були покладені в основу методичних вказівок з аналітичного визначення, які узгоджені з МОЗ України, зат-

верджені Міністерством охорони навколишнього природного середовища України, видані у формі офіційних друкованих видань та направлені в органи санепідслужби для здійснення контролю (табл. 3). Запропоновані методи з межами кількісного визначення імазапіру, імазетапіру та імазамоксу, що наведені у табл. 3, є високочутливими, селективними і дозволяють контролювати дотримання гігієнічних нормативів досліджуваних імідазолінонів у повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді та ґрунті.

Таблиця 3

Гігієнічні нормативи та межі кількісного визначення імідазолінонових гербіцидів

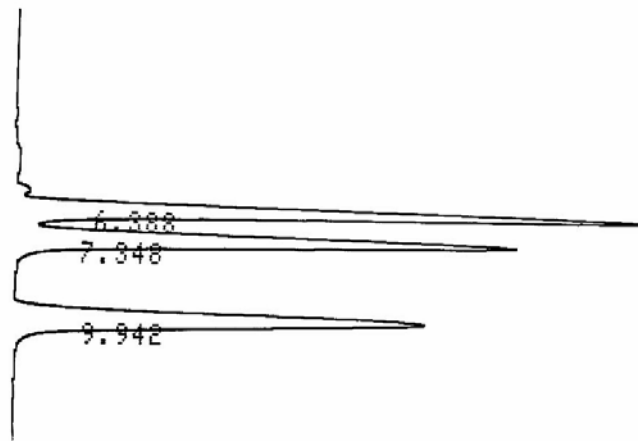
Об'єкт дослідження	Гігієнічний норматив	Межа кількісного визначення	Номер методичних вказівок
Імазапір			
Ґрунт	ГДК – 0,03 мг/кг	0,03 мг/кг	№ 722-2007
Імазетапір			
Повітря робочої зони	ОБРВ – 0,5 мг/м ³	0,25 мг/м ³	№ 441-2003
Атмосферне повітря	ОБРВ – 0,04 мг/м ³	0,03 мг/м ³	
Вода	ГДК – 0,006 мг/дм ³	0,003 мг/дм ³	№ 474-2004
Ґрунт	ГДК – 0,03 мг/кг	0,03 мг/кг	№ 440-2003
Імазамокс			
Повітря робочої зони	ОБРВ – 1,0 мг/м ³	0,5 мг/м ³	№ 649-2006
Атмосферне повітря	ОБРВ – 0,04 мг/м ³	0,03 мг/м ³	
Вода	ГДК – 0,06 мг/дм ³	0,003 мг/дм ³	№ 629-2006
Ґрунт	ОДК – 0,4 мг/кг	0,1 мг/кг	№ 650-2006

Розроблені методи були використані при проведенні натурних гігієнічних експериментів з вивчення поведінки в об'єктах виробничого та навколишнього середовища д.р. гербіцидів Арсенал, в.к., Півот, в.р.к., Пульсар, в.р. та Євролайтнінг для визначення їх вмісту в повітрі робочої зони працівників різних професійних груп (оператор розчинного вузла – заправник обприскувача, тракторист), змивах зі шкіри, рукавичок, нашивках на спецодязі, у повітрі та ґрунті в зоні обробки та в зоні можливого зносу [3, 4, 8, 11].

Отримані результати дозволили оцінити потенційний ризик шкідливого впливу досліджуваних імідазолінонів на організм працюючих

при комплексному надходженні через дихальні шляхи та шкіру, розрахувати їх екотоксикологічний ризик та обґрунтувати гігієнічні регламенти застосування препаратів на їх основі.

Враховуючи, що похідні імідазолінонів є достатньо стабільними у ґрунті і те, що гербіцидний препарат Євролайтнінг, в.р. є комбінованим (д.р. імазапір та імазамокс), були підібрані умови сумісного визначення досліджуваних імідазолінонів. Оптимальними умовами хроматографічного розділення трьох імідазолінонів виявилися умови хроматографування імазамоксу. При цьому час утримування становить: для імазапіру – 6,3–6,4 хв., імазамоксу – 7,3–7,4 хв. та імазетапіру – 9,9–10,0 хв. (рис.).



Хроматограма розчину суміші імазапіру, імазамоксу та імазетапіру з масовими концентраціями 5 мкг/мл кожної сполуки

Одночасне визначення цих імідазолінонових гербицидів у пробі дозволить значно прискорити швидкість її аналізу та зменшити витрати на його проведення.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено високочутливі та селективні методи визначення імазапіру, імазетапіру та імазамоксу в об'єктах виробничого середовища, які дозволяють контролювати встановлені гігієнічні нормативи.

2. Впровадження офіційно затверджених методичних вказівок із визначення імазапіру, імазетапіру та імазамоксу методом високоефективної рідинної хроматографії у практику роботи установ санітарно-епідеміологічної служби та Міністерства охорони навколишнього природного середовища України сприяє контролю за застосуванням у сільському господарстві препаратів на їх основі, удосконаленню моніторингу пестицидів у довкіллі та розробці заходів із мінімізації їх шкідливої дії на здоров'я населення.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алтухова Т.В., Пономарев Г.В., Гиневский Н.К. Гербициды в посевах сои // Защита и карантин растений. – 2004. – № 5. – С. 36–37.
2. Аналітична хімія залишкових кількостей пестицидів: Навч. посібник. / Клісенко М.А., Александрова Л.Г., Демченко В.Ф. та ін. – К.: ЕКОГІНТОКС, 1999. – 238с.
3. Гигиеническая оценка воздушной среды при применении современных гербицидов на зерновых и зерно-бобовых культурах / Бардов В.Г., Карпенко В.В., Горбачевский Р.В. и др. // Материалы V междунар. конф. „Воздух'2007” „Качество воздушной среды”. – С.-Петербург, 2007. – С. 110–116.
4. Гігієнічна оцінка умов праці та ризику використання гербицидів на основі імазетапіру для захисту бобових культур / Дема О.В., Коршун О.М., Горбачевський Р.В. та ін. // II з'їзд токсикологів України: Тези доп. – К., 2004. – С. 85.
5. Дема О.В. Гігієнічне обґрунтування регламентів використання в сільському господарстві гербицидів на основі імазетапіру: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.02.01 / НМУ імені О.О. Богомольця. – К., 2007. – 18с.
6. Допустимі дози, концентрації, кількості та рівні вмісту пестицидів у сільськогосподарській сировині, харчових продуктах, повітрі робочої зони,

- атмосферному повітрі, воді водоймищ, ґрунті: ДСанПіН 8.8.1.2.3.4.-000-2001. – К., 2001. – 244 с.
7. Дряхлов А.И., Горбатенко Э.В. Пивот – надежная защита сои от сорняков // Земледелие. – 1999. – № 1. – С. 35.
8. Коршун М.М., Горбачевський Р.В., Коршун О.М. Наукове обґрунтування гігієнічних регламентів застосування сучасних імідазолінонових гербицидів // Матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвяченої Всесвітньому дню здоров'я 2009 р. // Охорона здоров'я України. – 2009. – № 1 (33). – С. 103–104.
9. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні (офіційне видання). – К.: Юнівест Маркетинг, 2008. – 447с.
10. Пономарев Г.В., Гиневский Н.К., Алтухова Т.В. Гербициды в посевах сои // Защита и карантин растений. – 2003. – № 11. – С. 31.
11. Порівняльна токсиколого-гігієнічна оцінка гербицидів – похідних імідазолінону / Коршун М.М., Омельчук С.Т., Гаркавий С.І. та ін. // Гігієна населених місць. – 2006. – Вип. 47. – С. 159–171.
12. Практическая газовая и жидкостная хроматография: Учеб. пособие / Б.В. Столяров, И.М. Савинов, А.Г. Виттенберг и др. – СПб.: Изд-во С.-Петербургского университета, 1998. – 612 с.
13. Применение жидкостной экстракции в анализе

водорастворимых витаминов // Реферати докладів другого міжнародного форуму „Аналитика и аналитики” / Мокшина Н.Я., Ерина О.В., Шаталов Г.В. и др. – Воронеж, 2008. – Т. 2. – С. 481.

14. Садек П. Растворители для ВЭЖХ / П. Садек; Пер. с англ. А.А. Горбатенко и Е.И. Ревинной. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. – 704 с.

15. Угрюмов Е.П., Савва А.П. Гербициды последнего поколения: изыскание, применение, проблемы агроэкологической безопасности // Актуальные вопросы биологии защиты растений. – Пушкино, 2000. – С. 139–152.

16. Чмилъ В.Д. Состояние и перспективы использования современных инструментальных методов анализа пестицидов в Украине // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 2. – С. 56–61.

17. AC 263499: a new grass and broadleaf herbicide for use in soybeans and other legumes / Wang T., Colbert D.R., Dobson I.D. et al. // Proc. South. Weed Sci. Soc. – 1985. – Vol. 38. – P.49.

18. Peoples T.R. Today's herbicide: arsenal herbicide // Weeds Today. – 1984. – Vol. 15, N 1. – P. 8-9.

19. The e-Pesticide Manual [Электронный ресурс]: A World Compendium The e-Pesticide Manual / Version 3.2 2005–06. – Thirteenth Edition: CD-вид-во CDS Tomlin, 2005. – 1 электрон. опт. диск (CD); 12 см. – Систем. вимоги: Pentium; 32 Mb RAM; CD-ROM Windows 95/98/2000/NT/XP.

20. The imidazolinone herbicides / Ed. Shaner D.L., O'Connor S.L. – Boston, London: CRC Press, Boca Raton Ann Arbor, 1991. – 290 p.

