

ОСНОВНІ ПУБЛІКАЦІЇ

УДК 613:632.95.028

БІЛОУС С.В., ВАВРІНЕВИЧ О.П., ЛПАВСЬКА А.О., ОМЕЛЬЧУК С.Т., НИКИТЮК О.А.

АНАЛІТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ГІГІЄНИЧНОГО КОНТРОЛЮ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ АМЕТОКТРАДИНУ В ОБ'ЄКТАХ ДОВКІЛЛЯ ТА СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКІЙ ПРОДУКЦІЇ

Було вивчено хроматографічне розділення в умовах високоефективної рідинної хроматографії з ультрафіолетовим детектором для аметоктрадину – нового фунгіциду класу триазолпіримідинів. В результаті проведеної роботи встановлені оптимальні умови хроматографування, підібрані екстрагенти та найбільш ефективні способи очистки екстрактів проб для визначення аметоктрадину в ґрунті, повітрі, воді та сільськогосподарських культурах. Запропоновані аналітичні методи дозволяють контролювати всі обґрунтовані та офіційно затверджені гігієнічні нормативи в повітрі робочої зони, атмосферному повітрі, воді, ґрунті, огірках, томатах, картоплі, цибулі-ріпці, винограді, томатному та виноградному соках.

Ключові слова: *фунгіциди, триазолпіримідини, високоефективна рідинна хроматографія, об'єкти навколишнього середовища*

Было изучено хроматографическое разделение в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектором для аметоктрадина – нового фунгицида класса триазолпиримидинов. В результате проведенной работы установлены оптимальные условия хроматографирования, подобраны экстрагенты и наиболее эффективные способы очистки экстрактов проб для определения аметоктрадина в почве, воздухе, воде и сельскохозяйственных культурах. Разработанные аналитические методы позволяют контролировать все обоснованные и официально утвержденные гигиенические нормативы в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе, воде, почве, огурцах, томатах, картофеле, луке-репке, винограде, томатном и виноградном соках.

Ключевые слова: *фунгициды, триазолпиримидины, высокоэффективная жидкостная хроматография, объекты окружающей среды*

Chromatographic separation under high performance liquid chromatography conditions with ultraviolet detector was studied for ametoctradin – new triazolopyrimidines fungicide. As a result of this work, the optimal chromatography conditions were established, extractants and the most effective methods for samples extracts purifying were selected to perform determination of ametoctradin in soil, air, water and crops. Developed analytical methods allow controlling all substantiated and approved hygienic standards in the working zone air, atmospheric air, water, soil, cucumbers, tomatoes, potatoes, onions, bulb onions, grape, tomato and grape juice.

Key words: *fungicides, triazoles, pyrimidines, high performance liquid chromatography, environmental objects*

Вступ

У сучасному розвитку сільськогосподарського виробництва спостерігається тенденція до появи пестицидних препаратів на основі сполук нових хімічних класів, до яких належить аметоктрадин – речовина класу триазолпіримідинів. Можливість проведення моніторингу залишкових кількостей пестицидів в об'єктах довкілля та харчових продуктах має важливе

значення для безпеки населення. Серед методів, які широко використовуються для контролю залишкових кількостей пестицидів, провідне місце посідає вискоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) [1, 2].

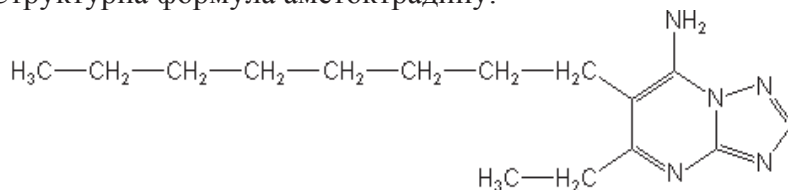
Фахівцями державної лабораторії біології хвороб рослин і комах-шкідників Інституту захисту рослин Китайської академії сільськогосподарських наук розроблено ефективний і чутливий метод для кількісного визначення залишкових кількостей аметоктрадину в харчових продуктах за допомогою ультра-рідинної хроматографії в поєднанні з мас-спектрометрією [3]. Зважаючи на високу вартість обладнання та складність відтворення зазначеного методу, в Україні для контролю за застосуванням пестицидів найпоширенішим є метод вискоєфективної рідинної хроматографії [4, 5].

Враховуючи наведене вище, метою нашої роботи була розробка аналітичних методів визначення аметоктрадину у повітрі, воді, ґрунті та харчових продуктах (томатах і винограді та соках з них, огірках, картоплі та цибулі-ріпці) для гігієнічного контролю за дотриманням гігієнічних нормативів при застосуванні фунгіцидів на основі триазолпіримідинів.

Матеріали та методи дослідження

Об'єкт дослідження: діюча речовина препарату Орвего – аметоктрадин (5-етил-6-октил[1,2,4]триазол[1,5-а]піримідин-7-амін за номенклатурою IUPAC), представник нового хімічного класу триазолпіримідинів.

Структурна формула аметоктрадину:



Фізико-хімічні властивості аметоктрадину [6]:

- тиск пари (при 25 °С): $2,1 \times 10^{-7}$ мПа ($1,58 \times 10^{-12}$ мм рт. ст.);
- коефіцієнт розподілу н-октанол/вода (при 25 °С): $\log P = 4,4$;
- розчинність у воді: 0,15 мг/л (при 20 °С);
- розчинність в органічних розчинниках (при 20 °С, мг/л): метанол – 7200; ацетон – 1900; етилацетат – 800; толуол – 100.

Результати та їх обговорення

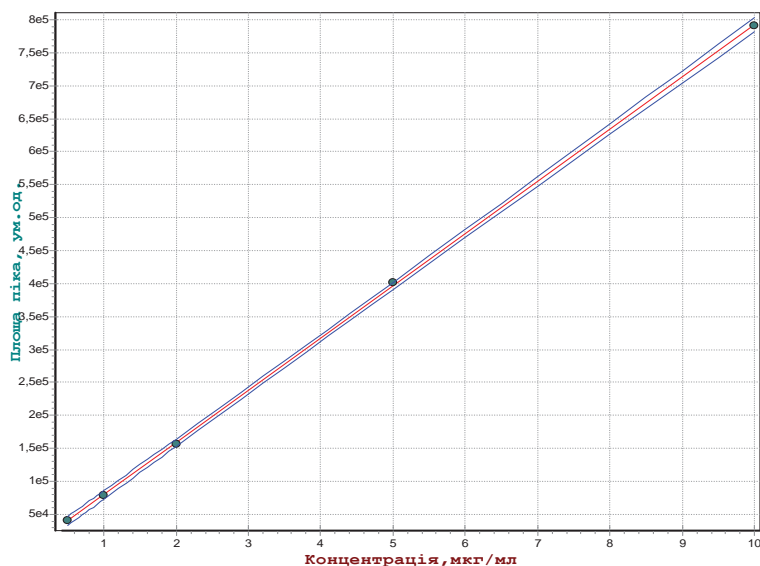
На першому етапі нами було проведено серію лабораторних експериментів із встановлення оптимальних умов хроматографування аметоктрадину. В якості рухомої фази досліджено такі системи розчинників: метанол і бідистильована вода та метанол з 0,1 % водним розчином ортофосфорної кислоти у різних комбінаціях (70+30; 75+25 та 80+20, об+об). Для встановлення оптимальної довжини хвилі детектування проведено дослідження в діапазоні хвиль від 220 до 300 нм. В результаті проведених лабораторних експериментів встановлено оптимальні умови хроматографування (табл. 1).

На основі проведених експериментів побудовано градувальний графік, визначено діапазон, в якому спостерігається лінійна залежність площі піка від концентрації аметоктрадину та розраховано робочі характеристики. Градувальний графік (рис. 1) побудовано у відповідності до вимог міжнародного стандарту [7].

На наступному етапі проведено серію лабораторних експериментів з підбору екстрагентів та найбільш ефективних способів очистки екстрактів проб – використано такі органічні розчинники, як метанол, ацетон, хлороформ і їх суміші. В результаті проведених досліджень визначено екстрагенти та способи очистки, які забезпечують селективне вилучення досліджуваної сполуки (табл. 2).

Умови хроматографування аметоктрадину

Характеристика методу визначення	Аметоктрадин
Хроматограф	Рідинний хроматограф «Shimadzu», Японія
Детектор	Ультрафіолетовий (УФ)-детектор
Колонка	Хроматографічна сталева (250×4,6) мм, заповнена Нуклеосилом C ₁₈ (100-5)
Рухома фаза	Суміш метанол+бідистильована вода (80+20, об+об)
Об'ємна витрата рухомої фази	1,0 мл/хв.
Довжина хвилі УФ-детектора	295 нм
Температура термостата колонки	30 °С
Об'єм, що хроматографується	20 мкл
Час утримування за даних умов	(6,6±0,1) хвилини
Лінійний діапазон детектування, мкг/мл	0,5 – 10,0
Залежність площі хроматографічного піку аметоктрадину (ум. од.) від його концентрації у градувальному розчині (мкг/мл)	$S_{\text{аметоктрадину}} = 549,9 + 79174,2 \times x$



Исполнитель	ІГЕ НМУ
Анализ	аметоктрадин
Тип регрессии	Стандартная
Целевая функция	$a + bx$
a =	549,887 (95% дов.инт. $a \pm 7,51E3$)
b =	79174,2 (95% дов.инт. $b \pm 1,47E3$)
СКО мет.($S_{x0}=S_{y}/b$)	0,0459
Остаточное СКО (S_y)	3634
Вар. коэфф. V_{x0} , %	1,434
$X_d(C\beta)$, $X_c(C\alpha)$	
Значимость регрессии	Удовл. { $S_{рег}/D_{ост}=2,93E4 > F(1;3)=10,1$ }
Лин. данных	Удовл. { $PG=1,883$; $F(1;3;0,95)=17,44$ }
Однор-сть дисперсий	Удовл. { $PG=9,59$; $X^2(4;0,95)=11,14$ }

Рис. 1. Градувальний графік аметоктрадину

У всіх випадках, незалежно від досліджуваної матриці, після проведення процедур екстракції та очистки проб об'єднані екстракт висушували безводним сульфатом натрію (20 – 25) г шляхом настоювання у конічній колбі місткістю 250 мл протягом 30 хвилин. Екстракт фільтрували через фільтр „червона стрічка” у грушоподібну колбу для відгону розчинників місткістю 250 мл, сульфат натрію та фільтр промивали 20 мл екстрагенту. Об'єднані екстракти випаровували на ротаційному випарнику при температурі водяної бані не вище за 45 °С до об'єму (0,2–0,3) мл. Залишок розчинника випаровували у витяжній шафі. Сухий залишок кількісно переносили в градуйовану пробірку місткістю 5 мл за допомогою метанолу для ВЕРХ. Кінцевий об'єм екстракту проб 2 мл для всіх досліджуваних проб.

Хроматографування екстрактів різних проб при вказаних у табл. 1 умовах супроводжувалось чітким розділенням піка аметоктрадину від коекстрактивних речовин, які присутні в матрицях проб (рис. 2). Метрологічні характеристики визначення аметоктрадину методом ВЕРХ в об'єктах навколишнього середовища наведено у табл. 3.

Таблиця 2

Умови підготовки проб об'єктів навколишнього середовища для визначення аметоктрадину хроматографічними методами

Досліджуваний об'єкт	Наважка, г (мл)	Етап підготовки проби	
		екстракція	реекстракція
Повітря робочої зони (фільтр «синя стрічка»)	4 л	метанол, 2×30 мл, щоразу протягом 30 хвилин	не потрібна
Атмосферне повітря (фільтр «синя стрічка»)	250 л		
Вода	400	20 мл ацетону протягом 20 хвилин + хлороформ, 3×50 мл, щоразу протягом 1-2 хвилин	не потрібна
Ґрунт, огірки, томати, картопля, цибуля-ріпка, виноград	20,0	метанол + ацетон + дистильована вода (5+2+3, об+об+об), 2×50 мл, щоразу протягом 30 хвилин	хлороформ*, 3×50 мл, щоразу протягом 1 – 2 хвилин
Томатний сік	20,0	40 мл ацетону, експозиція 15 хвилин	хлороформ*, 3×50 мл, щоразу протягом 1 – 2 хвилин
Виноградний сік	20,0	40 мл ацетону	хлороформ*, 3×50 мл, щоразу протягом 1 – 2 хв.

Примітка:

* після доведення реакції середовища до рН 9.

Таблиця 3

Гігієнічні нормативи та метрологічна характеристика визначення аметоктрадину в об'єктах навколишнього середовища та харчових продуктах методом високоефективної рідинної хроматографії

Досліджуваний об'єкт	ОБРВ, мг/м ³ , ГДК, мг/дм ³ , ОДК, мг/кг, МДР, мг/кг*	МКВ**, мг/м ³ , мг/дм ³ , мг/кг	Діапазон вимірювань, мг/м ³ , мг/дм ³ , мг/кг	Середнє значення визначення, R, %	Стандартне відхилення (n=12), S, %	Довірчий інтервал, (P=0,95), ± %
Повітря робочої зони	0,7	0,5	від 0,5 до 5,0	97,0	2,1	2,6
Атмосферне повітря	0,02	0,008	від 0,008 до 0,08	91,8	2,1	2,6
Вода	0,005	0,005	від 0,005 до 0,06	82,4	3,8	2,4
Ґрунт	0,6	0,1	від 0,1 до 1,4	79,2	4,4	2,8
Картопля	0,2	0,1	від 0,1 до 1,4	70,4	4,1	2,6
Цибуля-ріпка	0,2	0,1	від 0,1 до 1,4	71,3	3,7	2,4
Огірки	0,2	0,1	від 0,1 до 1,4	73,9	4,3	2,7
Томати	0,2	0,1	від 0,1 до 1,4	73,0	4,2	2,7
Томатний сік	не доп.	0,1	від 0,1 до 1,4	71,0	3,7	2,4
Виноград	0,2	0,1	від 0,1 до 1,4	71,9	3,9	2,5
Виноградний сік	не доп.	0,1	від 0,1 до 1,4	71,2	3,9	2,5

Примітки:

* гігієнічні нормативи аметоктрадину затверджені постановою головного державного санітарного лікаря України № 12 від 17 червня 2013 року;

** МКВ – межа кількісного визначення.

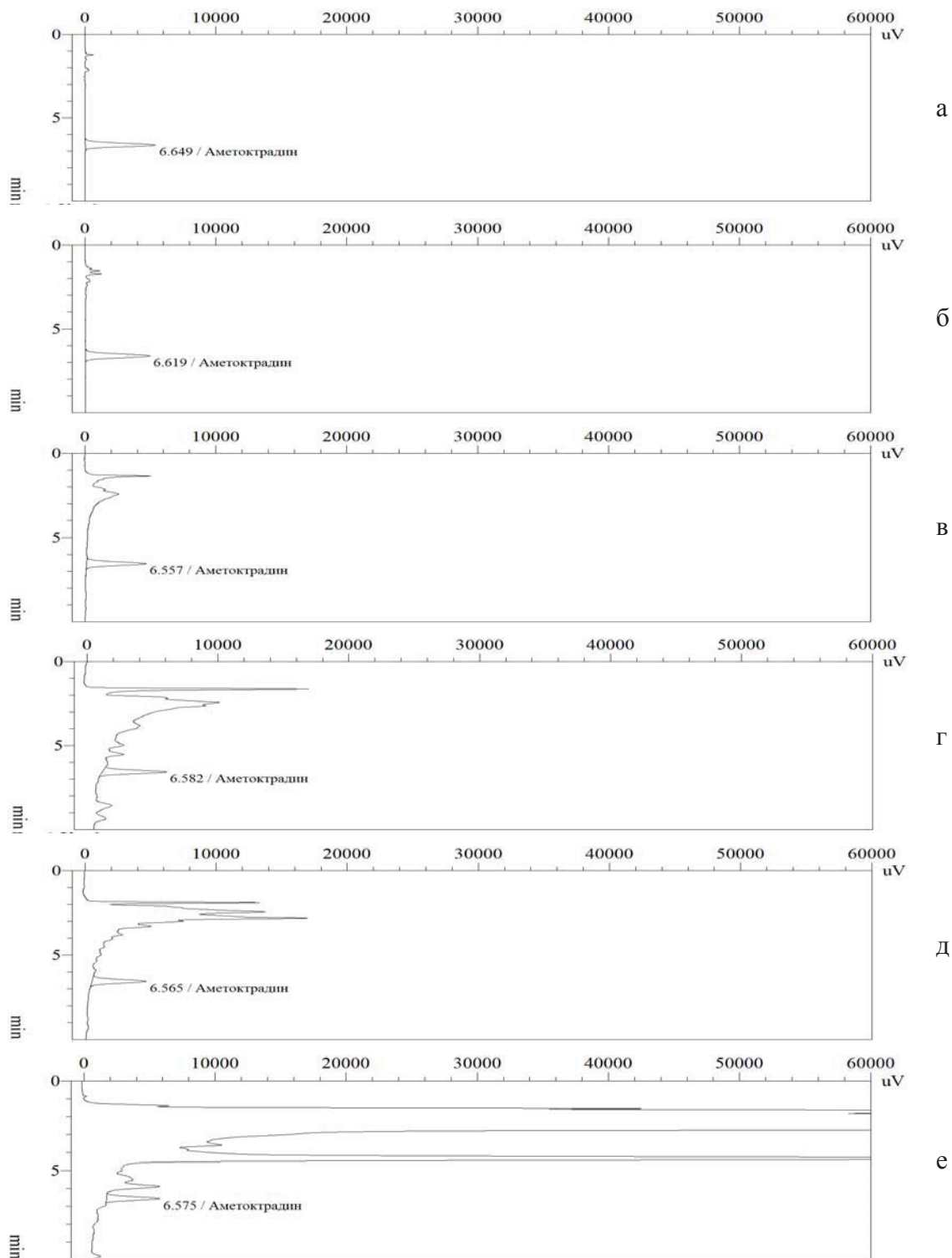


Рис. 2. Хроматограми:

а – стандартного розчину аметоктрадину 1,0 мкг/мл; б – проби повітря робочої зони з внесенням аметоктрадину 0,5 мг/м³; в – проби води з внесенням аметоктрадину 0,005 мг/дм³; г – проби ґрунту з внесенням аметоктрадину 0,1 мг/кг; д – проби томатів з внесенням аметоктрадину 0,1 мг/кг; е – проби томатного соку з внесенням аметоктрадину 0,1 мг/кг.

Висновок

Таким чином, розроблені методики відповідають сучасним вимогам, є селективними та дозволяють проводити контроль за вмістом аметоктрадину в різних об'єктах на рівні гігієнічних нормативів і можуть бути використані для оцінки стану об'єктів навколишнього середовища та динаміки залишкових кількостей речовини в сільськогосподарській продукції.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Aulakha J.S. et al.* A Review on Solid Phase Micro Extraction - High Performance Liquid Chromatography (SPME-HPLC) Analysis of Pesticides // *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. – 2005., Vol. 35. – Issue 1. – P. 71-85.
2. *Lidia María Ravelo-Pérez, Javier Hernández-Borges, Miguel Ángel Rodríguez-Delgado* Pesticides analysis by liquid chromatography and capillary electrophoresis // *Journal of Separation Science*. – 2006, Vol. 29. – Issue 17. – P. 2557–2577.
3. *Mingfeng Hu et al.* Determination of ametoctradin residue in fruits and vegetables by modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method using ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry // *Food Chemistry*. – 2015, Vol. 175. – P. 395-400.
4. *Антоненко А.М. та ін.* Оптимізація аналітичного контролю залишкових кількостей діючих речовин гербіциду Майстер Пауер OD // *Медичні перспективи*. – 2012, Том XVII. – № 2. – С.78-83.
5. *Коршун М.М. та ін.* Використання хроматографічних методів для контролю залишкових кількостей пестицидів – похідних сечовини – в об'єктах навколишнього та виробничого середовища // *Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О.Богомольця*. – 2009. – № 4 (26). – С. 92-100.
6. *The Pesticide Manual: A World Compendium / Ed. by C. Tomlin*. – 15th edition. – British Crop Protection Council, 2009. – 1457 p.
7. ДСТУ ISO 8466-1-2001. Якість води. Визначання градууювальної характеристики методик кількісного хімічного аналізу. Частина 1. Статистичне оцінювання лінійної градууювальної характеристики (ISO 8466-1:1990, IDT). – Введ. 01.01.2003 р. – К.: Держспоживстандарт України, 2002. – 19 с.
8. Постанова МОЗ України №20 від 20 квітня 1999 р «Про використання норм точності і правильності вимірювань при здійсненні контролю за вмістом хімічних речовин в продовольчій сировині, продуктах харчування і об'єктах довкілля і відповідності між величинами МДР і ГДК і границями аналітичного визначення хімічних речовин.
9. *Клисенко М. А., Александрова Л. Г., Демченко В. Ф., Макарчук Т. Л.* Аналітична хімія залишкових кількостей пестицидів. – Київ: ЕКОГІНТОКС, 1999. – 238 с.
10. Методичні вказівки з визначення аметоктрадину в повітрі робочої зони та атмосферному повітрі методом вискоелективної рідинної хроматографії. № 1247-2014 // Затв. Міністерством екології та природних ресурсів України (Наказ № 42 від 11.02.14) та погодж. з Державною санітарно-епідеміологічною службою України (Постанова головного державного санітарного лікаря України № 3 від 24.01.14).
11. Методичні вказівки з визначення аметоктрадину у воді методом вискоелективної рідинної хроматографії. № 1248-2014 // Затв. Міністерством екології та природних ресурсів України (Наказ № 42 від 11.02.14) та погодж. з Державною санітарно-епідеміологічною службою України (Постанова головного державного санітарного лікаря України № 3 від 24.01.14).
12. Методичні вказівки з визначення аметоктрадину в ґрунті методом вискоелективної рідинної хроматографії. № 1249-2014 // Затв. Міністерством екології та природних ресурсів України (Наказ № 42 від 11.02.14) та погодж. з Державною санітарно-епідеміологічною службою України (Постанова головного державного санітарного лікаря України № 3 від 24.01.14).
13. Методичні вказівки з визначення аметоктрадину у винограді та виноградному соку методом вискоелективної рідинної хроматографії. № 1250-2014 // Затв. Міністерством екології та природних ресурсів України (Наказ № 42 від 11.02.14) та погодж. з Державною санітарно-епідеміологічною службою України (Постанова головного державного санітарного лікаря України № 3 від 24.01.14).
14. Методичні вказівки з визначення аметоктрадину в картоплі та цибулі-ріпці методом вискоелективної рідинної хроматографії. № 1251-2014 // Затв. Міністерством

екології та природних ресурсів України (Наказ № 42 від 11.02.14) та погодж. з Державною санітарно-епідеміологічною службою України (Постанова головного державного санітарного лікаря України № 3 від 24.01.14).

15. Методичні вказівки з визначення аметоктрадину в огірках, томатах, томатному соку методом високоефективної рідинної хроматографії. № 1252-2014 // Затв. Міністерством екології та природних ресурсів України (Наказ № 42 від 11.02.14) та погодж. з Державною санітарно-епідеміологічною службою України (Постанова головного державного санітарного лікаря України № 3 від 24.01.14).

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

*Надійшло до редакції
18.03.2015*