View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE

УДК 614.7:632.952.028
DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i4.8308

П. В. Ставніченко, А. М. Антоненко, О. П. Вавріневич, О. В. Стеценко, С. Т. Омельчук, В. Г. Бардов
ІНСТИТУТ ГІГІЄНИ ТА ЕКОЛОГІЇ НАЦІОНАЛЬНОГО МЕДИЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ

ОПТИМІЗАЦІЯ АНАЛІТИЧНОГО КОНТРОЛЮ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ ФУНГІЦИДІВ ЦИФЛУФЕНАМІДУ ТА ДИФЕНОКОНАЗОЛУ У ВОДІ

Вступ. *Щорічно асортимент та обсяг застосування пестицидів поповнюються новими сполуками різних хімічних класів. Відомі способи визначення діючих речовин у воді методом газорідинної хроматографії передбачають визначення тільки по одному фунгіциду, що є досить затратним. Тому залишається актуальною розробка способу, який дозволить одночасно визначити різні речовини в одній пробі. Така методика дасть можливість значно збільшити швидкість одного визначення та зменшити витрати на його проведення. Цей спосіб має не тільки економічне, а й екологічне значення, оскільки може ефективно використовуватись для моніторингових досліджень навколишнього середовища.*

Мета дослідження *– розробити методику аналітичного визначення мікрокількостей цифлуфенаміду і дифеноконазолу при їх сумісній присутності у воді.*

Методи дослідження. *Дослідження включає екстрагування, концентрування та хроматографування підготовлених проб води. Кількісне визначення цифлуфенаміду та дифеноконазолу здійснювали методом газорідинної хроматографії з використанням електронозахватного детектора.*

Результати й обговорення. *Найкращого результату з вилучення діючих речовин із проб води було досягнуто при використанні хлороформу як екстрагенту. Встановлено умови хроматографування, за яких час утримування становив: цифлуфенаміду – 3,19 хв, дифеноконазолу – 12,58 хв. Межі кількісного визначення даного методу склали: для цифлуфенаміду – 0,001 мг/дм^3, дифеноконазолу – 0,001 мг/дм^3.*

Висновок. *Розроблено умови одночасного визначення цифлуфенаміду і дифеноконазолу методом газорідинної хроматографії при сумісній присутності в пробі води, що дозволяє значно прискорити аналіз та зменшити витрати на його проведення.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: **дифеноконазол; цифлуфенамід; фунгіциди; газорідинна хроматографія; вода.**

ВСТУП. При аналізі застосування в Україні й у світі хімічного методу захисту рослин було зроблено висновок, що асортимент пестицидів, препаративні форми і способи їх використання докорінно змінилися порівняно з тими, що були поширені в другій половині минулого сторіччя [1]. Сучасні препарати краще збалансовані за багатьма показниками, часто в їх складі міститься 2–3 діючих речовини, що розширює спрямованість і спрощує дозування та приготування робочих розчинів для їх застосування [1].

Серед фунгіцидів для застосування на плодових та овочевих культурах рекомендують препарати “Циделі Топ” і “Диналі” на основі діючих речовин дифеноконазолу (125 г/л) та цифлуфенаміду (15 г/л) [2]. Зазначені препарати задовольняють сучасні вимоги, а їх діючі речовини рекомендовані у світі для захисту багатьох плодових та овочевих культур. З огляду на велику кількість комбінованих препаратів на основі дифеноконазолу [2] й антирезистентну стратегію застосування пестицидів, яка передбачає використання сполук з новим механізмом дії та впровадження комбінованих препаратів на основі двох і більше діючих речовин, можливе активне застосування дифеноконазолу з іншими діючими речовинами в одному регіоні, а тому існує ймовірність їх одночасного надходження в об’єкти довкілля.

Для контролю за дотриманням гігієнічних норм цифлуфенаміду та дифеноконазолу у воді раніше було розроблено аналітичні способи визначення кожної речовини окремо методом газорідинної хроматографії [3, 4]. Відомі способи

© П. В. Ставніченко, А. М. Антоненко, О. П. Вавріневич, О. В. Стеценко, С. Т. Омельчук, В. Г. Бардов, 2017.

визначення діючих речовин у воді цим методом передбачають визначення тільки по одному фунгіциду, що є досить затратним як з позиції часу, так і з позиції коштів. Саме тому актуальною залишається розробка способу, який дозволить одночасно визначити обидві діючі речовини препаратів "Циделі Топ" та "Диналі" в одній пробі. Така методика дасть можливість значно збільшити швидкість одного визначення та зменшити витрати на його проведення.

Мета дослідження – розробити методику аналітичного визначення мікрокількостей цифлуфенаміду і дифеноконазолу при їх сумісній присутності у воді.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Діючі речовини, які досліджували, за своїми хімічними властивостями належать до різних хімічних класів: похідних амід фенілоцтової кислоти (цифлуфенамід) і заміщених триазолів (дифеноконазол).

Структурні формули та фізико-хімічні властивості досліджуваних сполук наведено в таблиці [5, 6].

При розробці аналітичного методу визначення досліджуваних сполук вносили аналітичні стандарти цифлуфенаміду та дифеноконазолу з вмістом діючої речовини 2,0 мкг/мл у 2000 л води.

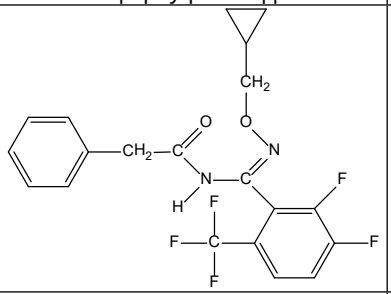
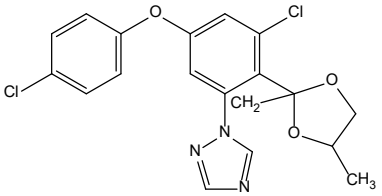
Вихідний стандартний розчин кожної з досліджуваних речовин містив 100 мкг/мл сполуки в 1 мл гексану. Шляхом змішування та послідовного розведення цих вихідних розчинів ацетонітрилом готували 5 робочих градуювальних розчинів суміші досліджуваних речовин з масовою концентрацією кожної сполуки 1,0; 2,0; 5,0; 8,0 і 10,0 мкг/мл та контрольний розчин суміші з масовою концентрацією кожної сполуки 4,0 мкг/мл.

Дослідження виконано методом газорідинної хроматографії на хроматографі "Кристалюкс-400 М", оснащеному капілярною колонкою HP-5, з електронозахватним детектором. Спочатку проводили хроматографічний аналіз розчину кожної речовини для подальшої ідентифікації піку конкретної сполуки на хроматограмі суміші. Після вибору оптимальних умов розділення цифлуфенаміду і дифеноконазолу хроматографування кожного градуювального розчину суміші проводили 5 разів для побудови графіків залежності висоти хроматографічного піку кожної сполуки від концентрації.

Ідентифікацію досліджуваних сполук в екстрактах проб води проводили за часом утримування кожної з двох речовин у градуювальних розчинах суміші, кількісне визначення – за відповідною залежністю площі хроматографічного піку речовини від концентрації в градуювальному розчині, яку встановлювали на підставі кореляційного та регресійного аналізу [7].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Пробу води (2000 мл) було розділено на 4 проби по 500 мл. Проби води поміщали в ділильну лійку місткістю 1000 мл, додавали 5 г NaCl та проводили екстракцію цифлуфенаміду і дифеноконазолу тричі різними екстрагентами (хлороформ, ксилол, метанол). Найкращого результату з вилу-

Таблиця – **Основні фізико-хімічні властивості цифлуфенаміду та дифеноконазолу**

Назва показника	Значення показника для досліджуваних речовин	
	цифлуфенамід	дифеноконазол
Структурна формула		
Емпірична формула	$C_{20}H_{17}F_5N_2O_2$	$C_{19}H_{17}CL_2N_3O_3$
Реєстраційний номер CAS	180409-60-3	119446-68-3
Молекулярна маса, г/моль	412,36	406,3
Температура плавлення, °С	61,5–62,5	72–75
Тиск пари (20 °С), Па	$3{,}54\times10^{-5}$	$3{,}3\times10^{-8}$ (25 °С)
Розчинність у воді (20 °С), мг/дм^3	0,52	20
Розчинність в органічних розчинниках (25 °С), г/дм^3	н-гептан – 15,7, н-гексан – 18,6, метанол – 198, ксилол – 217	етанол – 330, ацетон – 610, толуол – 500, н-гексан – 3,4
Коефіцієнт розподілу н-октанол/вода (20 °С)	$\log P_{о/в}=4{,}7$	logP=4,2

чення досліджуваних діючих речовин із проб води було досягнуто при використанні хлороформу як екстрагенту (тричі по 30 мл). Лійку струшували впродовж 1–2 хв, і після розділення шарів збирали хлоформний шар у конічну колбу місткістю 250 мл. Об'єднаний екстракт сушили безводним сульфатом натрію (20–25 г) шляхом настоювання в конічній колбі місткістю 250 мл протягом 30 хв.

У подальшому екстракт переносили в грушоподібну колбу для відгону розчинників місткістю 250 мл і концентрували на ротаційному випарнику при температурі водяної бані, не вищій 45˚С, до об'єму 0,2–0,3 мл. До сухого залишку випаровували розчинник на повітрі. Сухий залишок розчиняли в 1 мл гексану та переносили в градуювальну пробірку місткістю 10 мл.

Наступним етапом наших досліджень було встановлення оптимальних умов хроматографування для визначення вмісту цифлуфенаміду і дифеноконазолу методом газової хроматографії.

Встановлено оптимальні умови розділення та визначення цифлуфенаміду і дифеноконазолу: хроматографічна капілярна колонка HP-5 (довжина – 30 м, внутрішній діаметр – 0,32 мм); температура термостата колонки – (260±2) ˚С; температура випарника – (280±2) ˚С; температура підігріву детектора – (300±2) ˚С; об'ємна витрата газу-носія (азоту) (газ-1) – (30±0,1) мл/хв; об'ємна витрата газу-носія (азоту) (газ-2) – (10±0,1) мл/хв; об'ємна витрата газу-носія (азоту) (газ-3) – (20±0,1) мл/хв; тиск – 0,8 атм. Режим "Спліт": об'ємна витрата газу-носія (азоту) (газ-1) – (30±0,1) мл/хв, газу-носія (азоту) (газ-2) – (10±0,1) мл/хв; затримка включення – 5 с.

Ідентифікацію піків діючих речовин здійснювали за зовнішнім стандартом. В установлених умовах хроматографування час утримування становив: цифлуфенаміду – 3,19 хв, дифеноконазолу – 12,58 хв.

Хроматограми екстрактів проб води з внесенням по 0,001 мг/дм^3 цифлуфенаміду і дифеноконазолу наведено на рисунку.

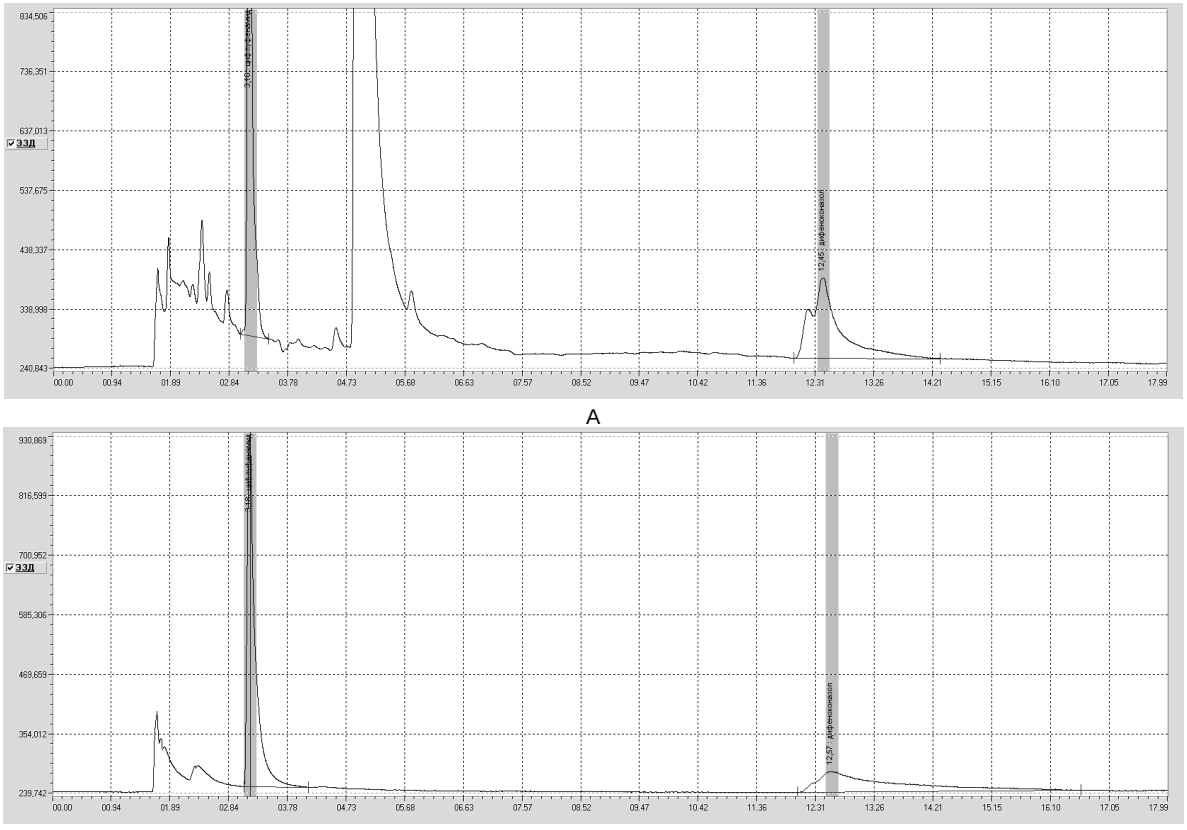
Для обчислення масової концентрації (ρ, мг/см^3) використовували формулу:

$$X = \frac{C \times H_2 \times V_2 \times V_3 \times 100}{H_1 \times V_1 \times P \times R},$$

де X – вміст цифлуфенаміду (дифеноконазолу), мг/дм^3;

C – концентрація стандартного розчину цифлуфенаміду (дифеноконазолу), мкг/мл;

H_1 – висота хроматографічного піку стандарту цифлуфенаміду (дифеноконазолу), мм;



А

Б

Рис. Хроматограми екстрактів проб води з внесенням по 0,001 мг/дм^3 цифлуфенаміду та дифеноконазолу: А – проба води з вмістом цифлуфенаміду та дифеноконазолу 5+10 мкг/мл; Б – суміш стандартного розчину цифлуфенаміду та дифеноконазолу 5+10 мкг/мл.

H_2 – висота хроматографічного піку цифлуфенаміду (дифеноконазолу) в пробі, мм;

V_1 – аліквота кінцевого розчину проби, введена в хроматограф, мкл;

V_2 – загальний об'єм упареного екстракту проби, мл;

V_3 – об'єм стандартного розчину цифлуфенаміду (дифеноконазолу), введений у хроматограф, мл;

P – об'єм проби, мл;

R – середнє значення визначення, знайдене напередодні, %.

Визначення R проводили попередньо шляхом внесення відомих кількостей цифлуфенаміду та дифеноконазолу в контрольні зразки води відповідно до даної методики.

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено умови одночасного визначення цифлуфенаміду і дифеноконазолу методом високоефективної рідинної хроматографії при сумісній присутності в пробі води, що дозволяє значно прискорити аналіз та зменшити витрати на його проведення.

2. Межі кількісного визначення розробленого методу для цифлуфенаміду та дифеноконазолу 0,001 мг/дм^3 дозволяють контролювати встановлені для цих речовин гігієнічні нормативи у воді.

3. Упровадження розробленого методу в практику роботи Міністерства екології та природних ресурсів України сприятиме вдосконаленню моніторингу пестицидів у довкіллі та проведенню заходів з мінімізації їх шкідливої дії на здоров'я населення.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Трибель С. О. Сучасний стан хімічного методу захисту рослин / С. О. Трибель, О. О. Стригун, О. М. Гаманова // Карантин і захист рослин. – 2014. – № 1 (210). – С. 1–4.

2. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні (Офіційне видання) / [упоряд. В. У. Ящук, В. М. Ващенко, Р. М. Кривошия та ін.]. – К. : Юнівест Медіа, 2016. – 1086 с.

3. Тимчасові методичні вказівки з визначення цифлуфенаміду у воді методом газорідинної хроматографії. № 1294-2014.

4. Методические указания по газохроматографическому определению дифеноконазола (СКОРА) в растительном материале, почве, воде. № 6147-91 // Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в пищевых продуктах, кормах и внешней среде : [сб. 22, часть 1]. – К. : УКРГОСХИМКОМИССИЯ, 1995. – С. 59–64.

5. PPDB: Pesticide Properties Data Base *[Електронний ресурс]:* Cyflufenamid – Електронні дані. – Режим доступу: http://rupest.ru/ppdb/cyflufenamid.html. – Назва з екрану.

6. PPDB: Pesticide Properties Data Base *[Електронний ресурс]:* Difenoconazole. – Електронні дані. – Режим доступу: http://rupest.ru/ppdb/difenoconazole.html. – Назва з екрану.

7. Международный стандарт ISO 0 8466-1:1990 (E). Качество воды – Калибровка и оценка аналитических методов определения рабочих характеристик. Часть 1 : Статистическая обработка линейной калибровочной функции. – 10 с.

REFERENCES

1. Trybel, S.O. Stryhun, O.O., & Hamanova, O.M. (2014). Suchasnyi stan khimichnoho metodu zakhystu roslyn [The current state of the chemical method of plant protection]. *Karantyn i zakhyst roslyn – Quarantine and Plant Protection*, 1 (210), 1-4 [in Ukrainian].

2. Yashchuk, V.U., Vashchenko, V.M., & Kryvoshyia R.M. (2014). *Perelik pestytsydiv i ahrokhimikativ, dozvolenykh do vykorystannia v Ukraini (Ofitsiine vydannia) [The list of pesticides and agrochemicals permitted for use in Ukraine (official publication)].* Kyiv: Yunivest Media [in Ukrainian].

3. *Tymchasovi metodychni vkazivky z vyznachennia tsyflufenamidu u vodi metodom hazoridynnoi khromatohrafii [Temporary guidance on the determination of dimethylfenamide in water by gas-liquid chromatography].* No. 1294-2014 [in Ukrainian].

4. (1995). *Metodicheskie ukazaniya po hazokhromatograficheskomu opredeleniyu dyfenokonazola (SKORA) v rastitelnom materiale, pochve, vode [Guidances on gas chromatographic determination of diphenoconazole (SCAR) in vegetative material, soil, water]. (1995). Metodicheskie ukazaniya po opredeleniyu mikrokolichestv pestitsydov v pishchevykh produktakh, kormakh i vneshney srede – Methodical guidelines for the determination of pesticide microcosms in food products, feeds and the environment].* Kyiv: UKRGOSKHIMKOMISSIYA [in Russian].

5. Pesticide Properties Data Base. Cyflufenamid. *Retrieved from:* http://rupest.ru/ppdb/cyflufenamid.html. (Assessed 12 of August 2017).

6. Pesticide Properties Data Base. Difenoconazole. *Retrieved from:* http://rupest.ru/ppdb/difenoconazole.html. (Assessed 12 of August 2017).

7. *International standart ISO 0 8466-1:1990 (E).* Kachestvo vody – Kalibrovka I otsenka analiticheskikh metodov opredeleniya rabochikh kharakteristik. Chast 1: Statisticheskaya obrabotka lineynoy kalibrovochnoy funktsii [Water quality – Calibration and evaluation of analytical methods for determining performance. Part 1: Statistical processing of linear gauge function]. [in Russian].

П. В. Ставниченко, А. Н. Антоненко, Е. П. Вавриневич, А. В. Стеценко, С. Т. Омельчук, В. Г. Бардов
ИНСТИТУТ ГИГИЕНЫ И ЭКОЛОГИИ НАЦИОНАЛЬНОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ А. А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ

ОПТИМИЗАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ФУНГИЦИДОВ ЦИФЛУФЕНАМИДА И ДИФЕНОКОНАЗОЛА В ВОДЕ

Резюме

Вступление. *Ежегодно ассортимент и объем применения пестицидов пополняются новыми соединениями различных химических классов. Известные способы определения действующих веществ в воде методом газожидкостной хроматографии предусматривают определение только по одному фунгициду, что является достаточно затратным. Поэтому остается актуальной разработка способа, который позволит одновременно определить различные вещества в одной пробе. Такая методика даст возможность значительно увеличить скорость одного определения и уменьшить расходы на его проведение. Этот способ имеет не только экономическое, но и экологическое значение, поскольку может эффективно использоваться для мониторинговых исследований окружающей среды.*

Цель исследования *– разработать методику аналитического определения микроколичеств цифлуфенамида и дифеноконазола при их совместном присутствии в воде.*

Методы исследования. *Исследование включает экстрагирование, концентрирование и хроматографирование подготовленных проб воды. Количественное определение цифлуфенамида и дифеноконазола осуществляли методом газожидкостной хроматографии с использованием электронозахватного детектора.*

Результаты и обсуждение. *Наилучшего результата по извлечению действующих веществ из проб воды было достигнуто при использовании хлороформа в качестве экстрагента. Установлены условия хроматографирования, при которых время удерживания составляло: цифлуфенамида – 3,19 мин, дифеноконазола – 12,58 мин. Пределы количественного определения данного метода составили: для цифлуфенамида – 0,001 мг/дм^3, дифеноконазола – 0,001 мг/дм^3.*

Вывод. *Разработаны условия одновременного определения цифлуфенамида и дифеноконазола методом газожидкостной хроматографии при совместном присутствии в пробе воды, что позволяет значительно ускорить анализ и уменьшить расходы на его проведение.*

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **дифеноконазол; цифлуфенамид; фунгициды; газожидкостная хроматография; вода.**

P. V. Stavnichenko, A. M. Antonenko, O. P. Vavrinevych,
O. V. Stetsenko, S. T. Omelchuk, V. G. Bardov
HIGIENE AND ECOLOGY INSTITUTE OF O. BOHOMOLETS NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, KYIV

METHOD OF SIMULTANEOUS DETERMINATION OF CYCLUFENAMIDE AND DIFENOCONAZOLE IN WATER

Summary

Introduction. *Annually, the assortment and application rates of pesticides are supplemented with new compounds of various chemical classes. Methods for the determination of active substances in water by the method of gas-liquid chromatography are known to provide for the determination of only one fungicide, which is quite costly. Therefore, it remains an actual goal to develop a method that will simultaneously identify different substances in one sample. Such a technique allows significantly increasing the speed of one definition and reducing the cost of conducting it. Such a method has not only economic but also ecological significance, since it can be effectively used for monitoring environmental studies.*

The aim of the study *– to develop a technique for the analytical determination of cyflufenamide and difenoconazole microquantities in water simultaneously.*

Research Methods. *Research includes extraction, concentration and chromatography of prepared water samples. The quantitative determination of cyflufenamide and difenoconazole was carried out by gas-liquid chromatography using an electron-capture detector.*

Results and Discussion. *The best result of active substances extraction from water samples was achieved using chloroform as an extractant. Chromatography conditions were established under which the retention time is: for cyflufenamide – 3.19 minutes; difenoconazole – 12.58 minutes. Limit of the quantification of this method for cyflufenamide is 0.001 mg/dm^3, difenoconazole – 0.001 mg/dm^3.*

Conclusion. *The conditions for simultaneous determination of cyflufenamide and difenoconazole by the method of gas-liquid chromatography are developed with their simultaneous presence in the water sample, which allows significantly speeding up the analysis and reducing the cost of conducting it.*

KEY WORDS: **difenoconazole; cyflufenamide; fungicides; gas-liquid chromatography; water.**

Отримано 21.09.17

Адреса для листування: *А. М. Антоненко, Інститут гігієни та екології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, просп. Перемоги, 34, Київ, 03057, Україна, e-mail: antonenko198@ukr.net.*