

УДК 543.544

ВАВРИНЕВИЧ Е.П., АНТРОПОВ К.Д., ГИРЕНКО Т.В.

АНАЛИЗ ТЕТРАКОНАЗОЛА И ПРОКВИНАЗИДА МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Визначені умови хроматографічного розділення похідних азолу та хіназолінону, на прикладі тетраконазолу і проквіназиду, використовуючи метод газорідинної хроматографії з капілярною колонкою HP-5 та електронно-захватним детектором. Розроблена методика була використана для визначення мікрокількостей сполук у виробничих пробах.

Ключові слова: газорідинна хроматографія, фунгіциди, азолі, похідні хіназолінону.

Определены условия хроматографического разделения производных азола и хиначолинона, на примере тетраконазола и проквиназида, используя метод газожидкостной хроматографии с капиллярной колонкой HP-5 и электронно-захватным детектором. Разработанная методика была использована для определения микроколичеств исследуемых соединений в производственных пробах.

Ключевые слова: газожидкостная хроматография, фунгициды, азолы, производные хиначолинона.

Determined conditions for chromatographic separation of azole and quinazolinone derivatives, by the example of tetraconazole and proquinazid, using GLC capillary column HP-5 and electron-capture detector. Developed method was used for determination of pesticides residues in samples after trials.

Key words: Gas-liquid chromatography (GLC), fungicide, azole, quinazolinone derivatives.

Введение

В настоящее время среди фунгицидов, применяемых для защиты плодовых культур, значительную часть составляют препараты на основе азотсодержащих соединений [1].

При этом наблюдается расширение ассортимента производных азолов и появление новых молекул, например хиначолинонового ряда, которые также являются эффективными фунгицидами [2]. Внедрение таких препаратов в практику сельского хозяйства обуславливает необходимость в разработке методов контроля их содержания в объектах окружающей среды и сельхозпродукции.

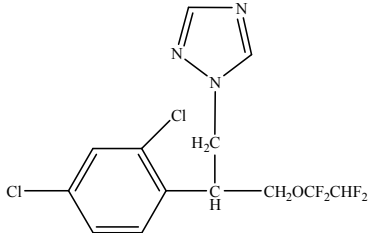
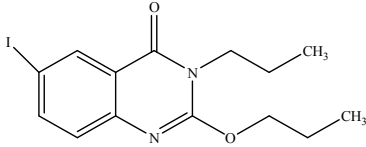
Целью данной работы являлось определение условий хроматографирования тетраконазола и проквиназида – действующих веществ препарата Талендо Экстра, рекомендуемого для применения на виноградниках.

Материалы и методы

Сведения о физико-химических свойствах изучаемых веществ приведены в таблице 1.

Таблица 1

Физико-химические свойства изучаемых соединений

| Характеристика | Тетраконазол | Проквиназид |
|-----------------------------------|---|---|
| Химическая формула | (RS)-2-(2,4дихлорфенил)-3-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)-пропил-1,1,2,2-тетрафторэтиловый эфир | 6-йодо-2-пропокси-3-пропил-3H-хиназолин-4-он |
| Структурная формула |  |  |
| Молекулярная масса | 372,1 | 372,2 |
| Давление пара, мм рт.ст. | $1,2 \times 10^{-5}$ | $7,0 \times 10^{-7}$ |
| Растворимость в воде, г/л (20 °С) | 0,15 | $0,93 \times 10^{-3}$ |

Стандартные растворы пестицидов (98-99 %) с концентрациями 0,5-5,0 мкг/мл готовили путем растворения в ацетоне.

Для исследования использовали газовый хроматограф «Кристаллюкс 4000М».

Количественную оценку отдельных компонентов проводили с использованием внешнего стандарта, а их идентификацию – по времени удерживания.

Хроматографирование в тонком слое сорбента проведено на пластинках:

- 1) «Мерк» (Германия) – тип сорбента – силикагель, толщина слоя - 250 мкм, размер частиц 10-12 мкм, удельная поверхность $550 \text{ м}^2/\text{г}$;
- 2) «Сорбфил» (Краснодар) – тип сорбента - силикагель СТХ-1А, толщина слоя 130 мкм, размер частиц 5-20 мкм, удельная поверхность $350 \text{ м}^2/\text{г}$;

Из проб воздуха анализируемые соединения концентрировали на бумажные фильтры с последующей экстракцией ацетоном.

Из ягод винограда тетраконазол и проквиназид экстрагировали хлороформом с последующей очисткой в системе жидкость-жидкость.

При определении методом газожидкостной хроматографией (ГЖХ) пробу растворяли в ацетоне.

Результаты исследований и их обсуждение

В литературе описаны методы определения замещенных триазолов и некоторых производных хиназолинового ряда, основанные на использовании газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии, которые позволяют определять индивидуальные соединения в отдельных матрицах [3, 4, 5, 6, 7].

В настоящей работе изучена возможность разделения смеси таких соединений при использовании наиболее доступных для аналитиков приборов, реактивов, материалов.

При экспериментальном скрининге условий разделения изучаемых соединений выбирали условия, при которых достигалось бы удовлетворительное разделение смеси компонентов и в то же время, пики коэкстрактивных веществ в экстрактах производственных проб, не мешали определению.

Проведенные исследования позволили определить оптимальные условия хроматографирования тетраконазола и проквиназида (таблица 2).

Таблица 2

Условия хроматографического определения смеси тетраконазола и проквиназида

| | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|
| Характеристики метода определения | тетраконазол и проквиназид |
| Тип детектора | Электроннозахватный |
| Тип хроматографической колонки | Капиллярная, HP-5 |
| Размер хроматографической колонки | 30м×0,32 мм |
| Толщина внутреннего слоя | 0,25 мкм |
| Газ-носитель | Азот (режим постоянного давления) |
| Температура термостата колонки | 200±2 °С |
| Температура работы детектора | 280±2 °С |
| Температура испарителя | 260±2 °С |
| Объемный расход газа носителя (азот) | 30 см ³ /мин |
| Объем введенной пробы | 1 мкл |
| Время удерживания тетраконазола | 6,88±0,1 мин |
| Время удерживания проквиназида | 20,52±0,1 мин |
| Программное обеспечение | NetChrom |

В соответствии с требованиями международного стандарта проведена статистическая обработка линейной калибровочной функции (рис. 1, рис. 2). По программе [7], составленной с учетом требований ИСО, рассчитаны рабочие характеристики, построены градуировочные графики и рассчитаны пределы количественного определения тетраконазола и проквиназида.

| Данные | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | Средние |
|-------------------------|--------|-------|-------|-------|-------|---------|
| Предикторы Xi | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 5 | 2,5 |
| Отклики Yi | | | | | | |
| Y1 | 36,05 | 63,18 | 123,8 | 262,8 | 338,5 | |
| Y2 | 34,22 | 65,63 | 132,7 | 254,1 | 344 | |
| Y3 | 34,8 | 60,31 | 138,9 | 263 | 332,2 | |
| Y4 | 21,44 | 60,23 | 124 | 234,9 | 362,6 | |
| Y5 | 34,63 | 57,87 | 128,6 | 246,4 | 341 | |
| Среднее | 32,23 | 61,44 | 129,8 | 252,2 | 343,7 | 163,9 |
| Ст. отклонение | 6,059 | 3,003 | 6,342 | 11,89 | 11,44 | 7,7498 |
| Отн. Ст. отклонение (%) | 18,8 | 4,89 | 4,89 | 4,71 | 3,33 | 7,324 |
| a + bx | 28,41 | 62,28 | 130 | 265,5 | 333,2 | 163,9 |
| Кoeffициенты регрессии | -5,457 | 67,73 | | | | |
| Стат. веса | | | | | | |

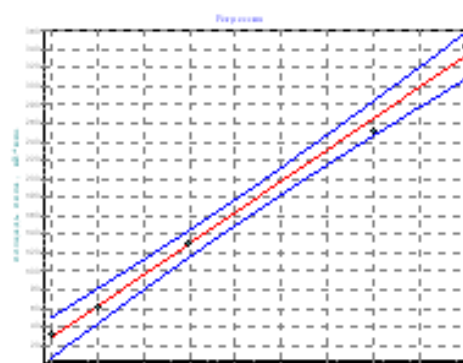


Рис.1. Градуировочный график тетраконазола

| Данные | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | Средние |
|-------------------------|--------|-------|--------|--------|---------|---------|
| Предикторы Xi | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 5 | 2,5 |
| Отклики Yi | | | | | | |
| Y1 | 43,88 | 89,13 | 162,63 | 360 | 423,28 | |
| Y2 | 42,78 | 93,27 | 167,40 | 357,01 | 423,92 | |
| Y3 | 45,48 | 83,65 | 163,20 | 360,97 | 426,05 | |
| Y4 | 39,16 | 64,74 | 166,64 | 290 | 428,52 | |
| Y5 | 42,8 | 85,21 | 176,96 | 342 | 427,390 | |
| Среднее | 42,82 | 83,2 | 167,4 | 342 | 425,8 | 212,2 |
| Ст. отклонение | 2,324 | 10,97 | 5,752 | 30,05 | 2,229 | 10,2664 |
| Отн. Ст. отклонение (%) | 5,43 | 13,2 | 3,44 | 8,79 | 0,523 | 6,2766 |
| a + bx | 41,12 | 83,9 | 169,5 | 340,6 | 426,2 | 212,2 |
| Кoeffициенты регрессии | -1,666 | 85,56 | | | | |
| Стат. веса | | | | | | |

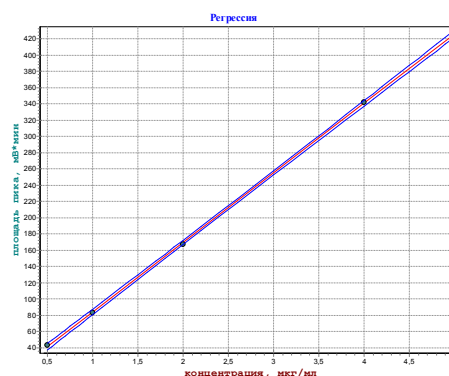


Рис.2. Градуировочный график проквиназида

На рис. 3 приведены хроматограмма стандартного раствора смеси тетраконазола и проквиназида (3 а); хроматограмма воздуха после обработки виноградника (3 б); хроматограмма экстракта винограда после обработки (3 в). Как следует из представленных данных, при температуре колонки 200 °С полностью разделены тетраконазол и проквиназид, а коэкстрактивные вещества не мешают разделению.

В скрининговых исследованиях для идентификации органических соединений дополнительным инструментом остается тонкослойная хроматография (планарная хроматография).

Проведена оценка эффективности различных пластинок (Сорбфил, Мерк) для разделения исследуемых соединений в различных подвижных фазах (ацетон, гексан, хлороформ, ацетон-гексан).

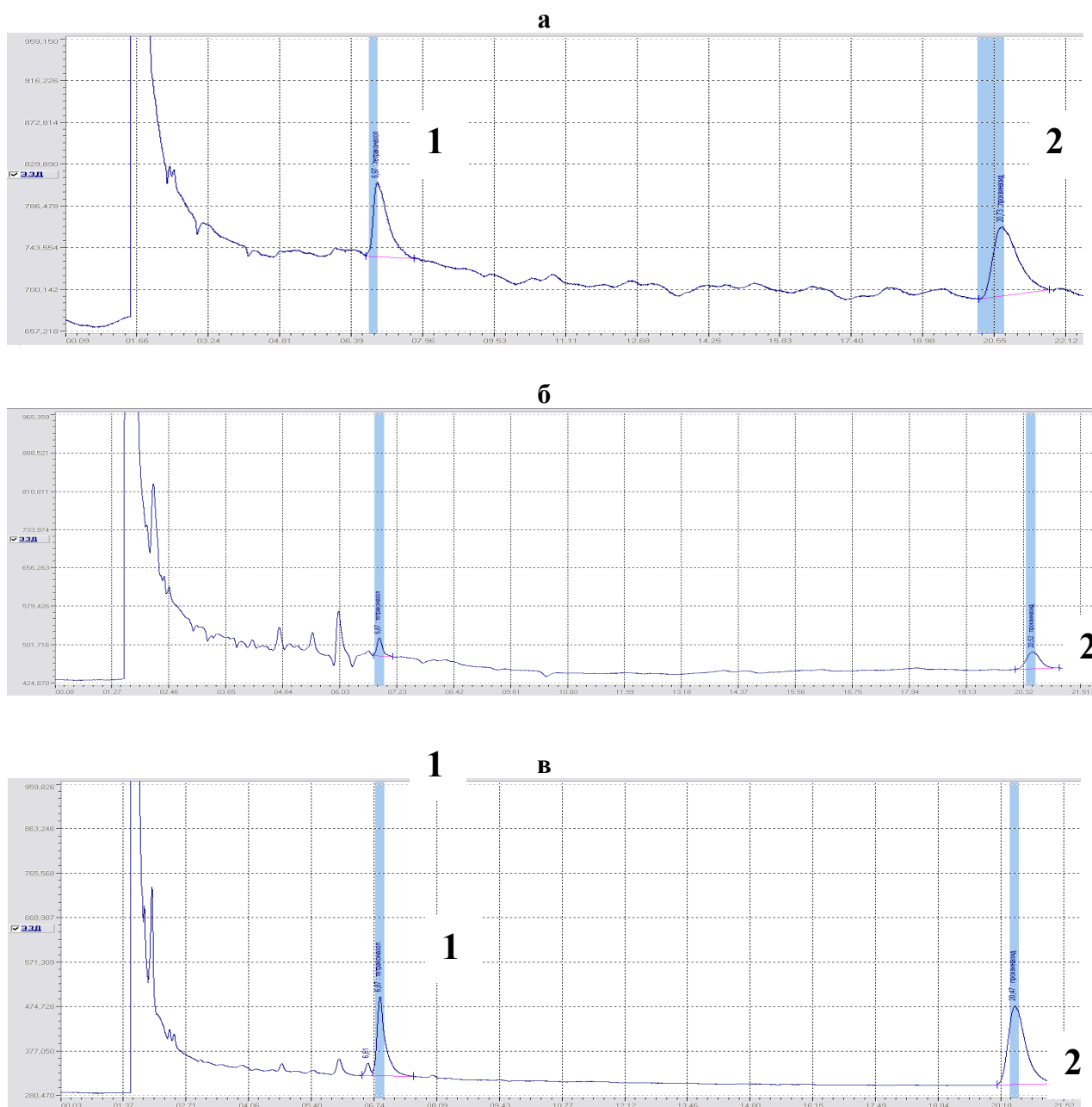


Рис. 3. Хроматограммы растворов:
а - стандартный раствор смеси тетраконазола (1) и проквиназида (2), 0,5 мкг/мл; **б** – проба воздуха; **в** – проба винограда.

Наиболее удовлетворительное разделение было достигнуто в смешанной подвижной фазе (ацетон + гексан, 1+1, об.+об.) на пластинках Сорбфил.

При изучении способов идентификации исследуемых соединений в слое сорбента различными детектирующими реагентами (бромфеноловый синий, реактив Драгендорфа, серебро азотнокислое и др.) было установлено, что наиболее эффективным является обнаружение с использованием бромфенолового синего и серебра азотнокислого. Однако, независимо от проявляющего реагента, предел определения проквиназида был значительно (в 10 раз) выше, чем тетраконазола. Установленный факт ограничивает применение метода тонкослойной хроматографии для определения смеси веществ в одной пробе.

Выводы

Изучено разделение производных азолов и хиназолинонов в условиях газожидкостной и тонкослойной хроматографии. Показана возможность определения смеси пестицидов в воздухе и сельскохозяйственных культурах при применении смесевых пестицидных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні (Офіційне видання) / Міністерство екології та природних ресурсів. Київ. – 2012. – 831 с.

2. **Белан С.Р.** Новые достижения в химии фунгицидов // Агрехимия. – 2003. – № 11. – С. 27-32

3. Методичні вказівки з визначення масової концентрації тетраконазолу в повітрі робочої зони методом газорідної хроматографії. // Методичні вказівки з визначення мікрокількостей пестицидів в продуктах харчування, кормах та навколишньому середовищі. – 2004. – № 36. – С. 111-117.

4. Методичні вказівки з визначення проквіназиду в повітрі робочої зони та атмосферному повітрі методом газорідної хроматографії. // Методичні вказівки з визначення мікрокількостей пестицидів в продуктах харчування, кормах та навколишньому середовищі. – 2011. – № 69. – С. 5-20.

5. **Mohamed M.A., Mostafa A.S., Hayam M. L., Hany H.M.** Determination of Tetraconazole and Diniconazole Fungicide Residues in Tomatoes and Green Beans by Capillary Gas Chromatography // YAKUGAKU ZASSHI. – 2007. – Vol. 127(6). – P. 993-997.

6. **Stamatas Y., Genet J.L., Theocharis C., Panorios D,** Proquinazid (Talendo 20 EC) a new fungicide against powdery mildew on grapes // Phytopathol. Mediterr. – 2009. – Vol. 48. – P. 307-350.

7. **Hu Zhang, Mingrong Qian, Xinquan Wang,** et al. Analysis of Tebuconazole and Tetraconazole Enantiomers by Chiral HPLC-MS/MS and Application Measure Enantioselective Degradation in Strawberries // Food Analytical Methods. – 2012. – Vol. 5. Issue 6. – P. 1342-1348.

8. **Макарчук В. М., Макарчук Т.Л., Макарчук Я.В.** Компьютерная программа “Статистическая обработка линейной калибровочной функции”. Место хранения Институт медицины труда НАМН Украины. – 1998.

9. **Шандеренко С.Г., Головин А.С., Дмитренко М.П., Юрченко А.И., Бабичева О.Ф.** Комп'ютерна реєстрація та аналіз результатів тонкошарової хроматографії // Журнал хроматографічного товариства. – 2002. - № 4. – С. 22-30.

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

*Надійшло до редакції
26.02.2013*