

НОВОХАЦЬКА О.О., ЛІПАВСЬКА А.О., КОРШУН О.М., ВАВРІНЕВИЧ О.П.,
ОМЕЛЬЧУК С.Т.

**АНАЛІТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ГІГІЄНИЧНОГО КОНТРОЛЮ ЗАЛИШКОВИХ
КІЛЬКОСТЕЙ ФЛУФЕНАЦЕТУ В ОБ'ЄКТАХ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА ТА
КАРТОПЛІ**

Визначено умови хроматографування речовини класу оксиацетамідів - флуфенацету, при використанні методу газорідинної хроматографії з капілярною колонкою HP-5 та методу високоефективної рідинної хроматографії з УФ-детектуванням. Розроблена методика була використана для визначення мікрокількостей флуфенацету у повітрі, воді, ґрунті та картоплі.

Ключові слова: газорідинна хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія, гербіциди, похідні оксиацетамідів, флуфенацет.

Определены условия хроматографирования соединения класса оксиацетамидов - флуфенацета, при использовании метода газожидкостной хроматографии с капиллярной колонкой HP-5 и метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием. Разработанная методика была использована для определения микроколичеств флуфенацета в воздухе, воде, почве и картофеле.

Ключевые слова: газожидкостная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, гербициды, производные оксиацетамидов, флуфенацет.

Studied conditions for chromatographic derivatives of oxyacetamides - flufenacet, using gas-liquid chromatography with capillary column HP-5 and high-performance liquid chromatography with UV detection. Developed method was used for determination flufenacet residues in air, water, soil and potatoes.

Key words: gas-liquid chromatography, high-performance liquid chromatography, herbicides, derivatives of oxyacetamides.

Вступ

Аналітичний контроль за вмістом пестицидів в об'єктах довкілля та сільськогосподарській продукції є обов'язковою складовою перед реєструванням нових хімічних засобів захисту рослин.

На ринку пестицидів України пропонуються до застосування пестициди на основі флуфенацету. Речовина належить до хімічного класу оксиацетамідів, який відноситься до нової групи дії проти засміченості рослин бур'янами [1].

Для кількісного визначення залишкових кількостей флуфенацету у воді, ґрунті та винограді були розроблені ефективні та чутливі методи, які передбачають використання високоефективної рідинної хроматографії з мас-спектрометрією (ВЕРХ–МС) [2, 3]. Необхідність наявності обладнання з високою вартістю і складність виконання вимірювання за цим методом обмежують його використання в Україні. На сьогоднішній день найбільшого поширення для контролю за вмістом пестицидів в об'єктах довкілля та сільськогосподарській продукції при застосуванні пестицидів мають методи газорідинної (ГРХ) та високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [4, 5, 6].

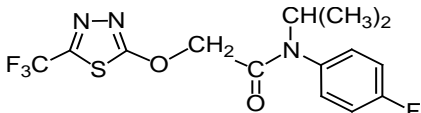
Враховуючи викладене вище, метою нашої роботи було розроблення аналітичних методів визначення флуфенацету у повітрі, воді, ґрунті та картоплі для контролю за дотриманням гігієнічних нормативів в об'єктах довкілля та сільськогосподарській продукції при застосуванні гербіцидів на основі оксиацетамідів.

Матеріали та методи дослідження

Дані щодо фізико-хімічних властивостей флуфенацету наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Фізико-хімічні властивості флуфенацету [7]

Показник	Значення	
Хімічна назва (IUPAC)	4'-фтор-N-ізопропіл-2-[5-(трифторметил)-1,3,4-триадіазол-2-ілокси]ацетанлід	
CAS №	142459-58-3	
Емпірична формула	C ₁₄ H ₁₃ F ₄ N ₃ O ₂ S	
Відносна молекулярна маса	363,3	
Структурна формула		
Тиск пари, мПа (20°C)	9×10 ⁻²	
Розчинність у воді, мг/дм ³ (25°C)	56,0	
Розчинність в органічних розчинниках, г/дм ³ (20°C)	н-гексан	8,7
	толуол	> 200
	дихлорметан	> 200
	диметилформаїд	> 200
	ацетонітрил	> 200
	диметилсульфоксид	> 200
	2-пропанол	170
поліетиленгліколь	74	
Коефіцієнт розподілу н-октанол/вода (log K _{ow}) (24°C)	3,2	

Результати та їх обговорення

На першому етапі дослідження було проведено серію експериментів зі встановлення оптимальних умов хроматографування флуфенацету, які наведені в табл. 2. При підборі рухомої фази проведено серію досліджень у системах ацетонітрил + бідистильована вода у різних комбінаціях (85 + 15, 75 + 25 та 65 + 35, об. + об.). Для визначення оптимальної довжини хвилі детектування проведено дослідження в діапазоні від 220 до 300 нм.

При виборі оптимальних умов газорідного хроматографування проводили дослідження за різних температур колонки в межах від 190 °C до 280 °C.

На наступному етапі досліджень був побудований градувальний графік (рис. 1, 2), визначена межа, де є наявною лінійна залежність між площею піка і вмістом флуфенацету за умов ВЕРХ і ГРХ. Градувальний графік побудовано у відповідності до вимог міжнародного стандарту [8].

Також було проведено серію лабораторних експериментів з підбору екстрагентів для вилучення досліджуваної речовини з проб повітря, води, ґрунту, картоплі та визначення найбільш ефективних методів очищення екстрактів проб. На етапі підбору екстрагентів були використані наступні органічні розчинники – метанол, ацетонітрил, ацетон, хлороформ, гексан, етилацетат, дихлорметан та їх суміші з різними співвідношеннями речовин.

В результаті проведених досліджень були встановлені оптимальні умови екстракції та очищення, які забезпечували селективне вилучення досліджуваної сполуки з матриць без сторонніх домішок, що заважали хроматографічному визначанню.

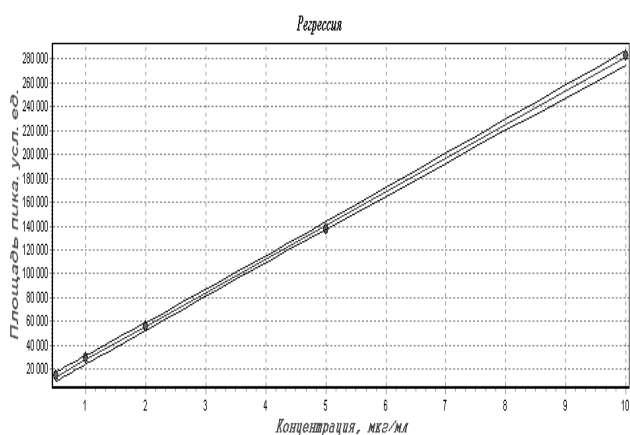
Проби повітря відбирали на різні сорбційні матеріали. Найкращі результати отримані при концентруванні повітря на паперовий фільтр «синя стрічка». Після концентрування флуфенацету з повітря на сорбційному матеріалі найкраща екстракція речовини з паперового

фільтра була досягнута під час використання ацетону. При виборі екстрагентів для визначення флуфенацету у воді найкращий результат отримано при використанні хлороформу. Найкраще вилучення флуфенацету з проб ґрунту досягнуто при використанні ацетону, а із картоплі – ацетоном (табл. 3).

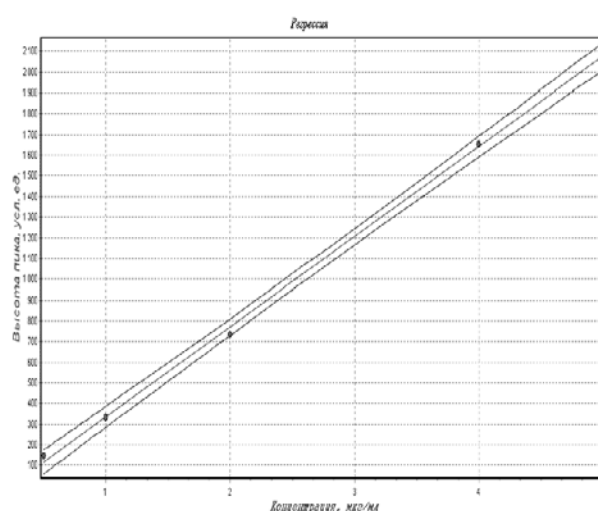
Таблиця 2

Умови хроматографування флуфенацету

Характеристика методу визначення	Флуфенацет	
	ВЕРХ	ГРХ
Хроматограф	Хроматограф рідинний «Шимадзу»	Хроматограф газовий «Кристаллюкс-4000 М»
Детектор	УФ детектор	Електроннозахватний детектор
Колонка	Хроматографічна сталева (250×4,6) мм, заповнена Нуклеосилом C ₁₈ (100-5)	Хроматографічна капілярна (30 м×0,32 мм) HP-5 (5 %-феніл)-метилсилоксан)
Перед колонка	Хроматографічна сталева (4×3) мм, заповнена Нуклеосилом C ₁₈ (100-5)	-
Рухома фаза	Суміш ацетонітрил + бідистильована вода (75 + 25, об. + об.)	-
Об'ємна витрата рухомої фази, см ³ /хв	1,0	-
Об'ємна витрата газу-носія (азоту), см ³ /хв	-	30±1
Довжина хвилі УФ детектора, нм	230	-
Температура термостата колонки, °С	30	190
Температура випарника, °С	-	260
Температура підігріву детектора, °С	-	280
Об'єм петлі інжектора рідинного хроматографа, мм ³	20	1
Час утримування за даних умов, хвилини	5,8 ± 0,1	8,8 ± 0,05
Лінійний діапазон детектування, мкг/см ³	0,5-10,0	0,5-5,0
Залежність площі хроматографічного піку флуфенацету (ум. од.) від його вмісту у градуювальному розчині (мкг/см ³)	$S_{\text{флуфенацету}} = 272,4 + 36315,7 \times \rho$	$S_{\text{флуфенацету}} = 99,366 + 435,18 \times \rho$



Исполнитель	ИГЭ НИУ им. О.О. Богомолова
Анализ	Градуировочный график для флуфенацета
Регрессия	$y = ax$
$a =$	70,2395
$b =$	28122,3
Ст. откл. мет.	0,074125
Отн. дисперсия	2094,56
Вар. коэфф. %	2,00333



Исполнитель	ИГЭ НИУ им. О.О. Богомолова
Анализ	градуировочный график для флуфенацета
Регрессия	$y = ax$
$a =$	302,66
$b =$	415,11
Ст. откл. мет.	6,161644
Отн. дисперсия	24,8273
Вар. коэфф. %	2,46525

Рис. 1. Градуировальный график флуфенацету, високоефективна рідинна хроматографія

Рис. 2. Градуировальный график флуфенацету, газорідинна хроматографія

Таблица 3

Умови екстрагування проб води, повітря, ґрунту та картоплі для визначання флуфенацету хроматографічними методами

Досліджуваний об'єкт	Об'єм проби для екстрагування (наважка)	Етап підготовки проби	
		Екстракція	Очищення
Повітря робочої зони (фільтр «синя стрічка»)	10,0 дм ³	ацетон, двічі по 30 см ³ , щоразу протягом 30 хв	не потрібне
Атмосферне повітря (фільтр «синя стрічка»)	1200,0 дм ³		
Вода	500,0 см ³	хлороформ, тричі по 50 см ³ , щоразу протягом 2 хв	не потрібне
Ґрунт	20,0 г	ацетон, один раз 50 см ³ , протягом 1 години, реекстрагування – хлороформ, 3×50 см ³ , щоразу протягом 2 хв	твердофазове, реекстрагування (картридж SPE NH ₂), елюювання ацетонітрилом 2×5 см ³
Картопля	20,0 г	ацетон, один раз 50 см ³ , протягом 1 години, реекстрагування - хлороформ, 3×50 см ³ , щоразу протягом 2 хв	твердофазове, реекстрагування (картридж SPE NH ₂), елюювання ацетонітрилом 2×5 см ³

Екстракти проб ґрунту та картоплі очищували на картриджі для твердофазного екстрагування (очищення) SPE - NH₂.

Для видалення води і попереднього висушування використовували безводний сульфат натрію із застосуванням перемішування в конічній колбі місткістю 250 см³ при температурі від 20 °С до 25 °С протягом 30 хвилин. Екстракти фільтрували через фільтр «червона стрічка» у грушоподібну колбу місткістю 250 см³ для видалення розчинників, сульфат натрію та фільтр промивали 20 см³ екстрагенту. Елюати з проб ґрунту та картоплі збирали в грушоподібну колбу для видалення розчинників (50-100 см³). Об'єднані екстракти та елюати випаровували на ротаційному випарнику з температурою водяної бані не вище за 40 °С до об'єму 0,2–0,3 см³. Залишок розчинника випаровували на повітрі.

Сухий залишок кількісно переносили в градуйовану пробірку місткістю 5 см³ за допомогою ацетонітрилу. Кінцевий об'єм екстракту проб повітря, води та картоплі – 1 см³, ґрунту – 2 см³.

Хроматограми стандартних розчинів флуфенацету, екстрактів різних проб з внесенням флуфенацету у воду на рівні – 0,002 мг/дм³, повітря робочої зони – 0,1 мг/м³, атмосферне повітря – 0,0008 мг/м³, ґрунт – 0,1 мг/кг, картоплю – 0,05 мг/кг наведені на рис. 3, 4.

Метрологічні характеристики визначення флуфенацету в об'єктах навколишнього середовища та сільськогосподарській сировині/продукції методами ГРХ та ВЕРХ наведені у табл. 4.

Згідно з даних наведених в табл. 4, середнє значення визначання флуфенацету при дослідженні різних матриць було не меншим за 70%, що відповідає сучасним вимогам до методичних вказівок [9].

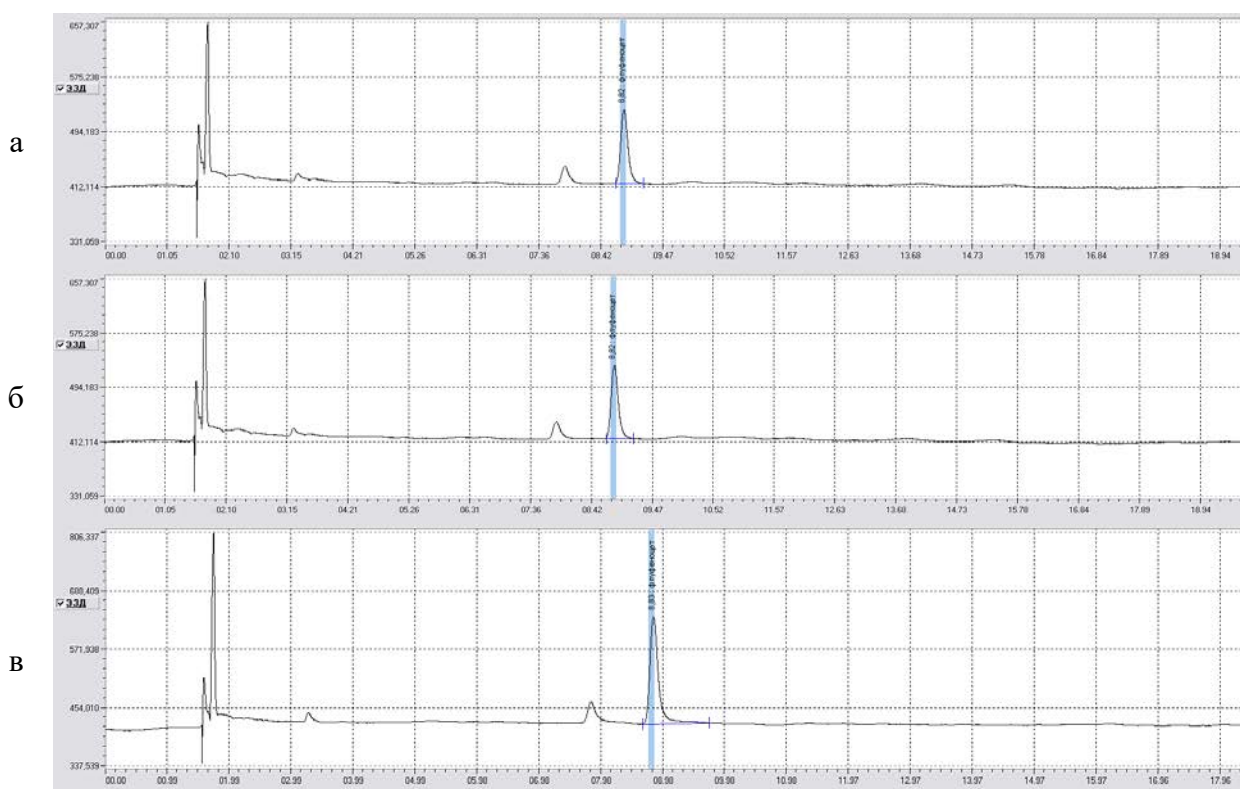


Рис. 3. Хроматограми стандартного розчину флуфенацету та екстрактів проб повітря і води в умовах газорідинної хроматографії:

а – стандартний розчин флуфенацету 1,0 мкг/ см³;

б – проби повітря робочої зони з внесенням флуфенацету 0,1 мг/м³;

в – проби води з внесенням флуфенацету 0,002 мг/дм³.

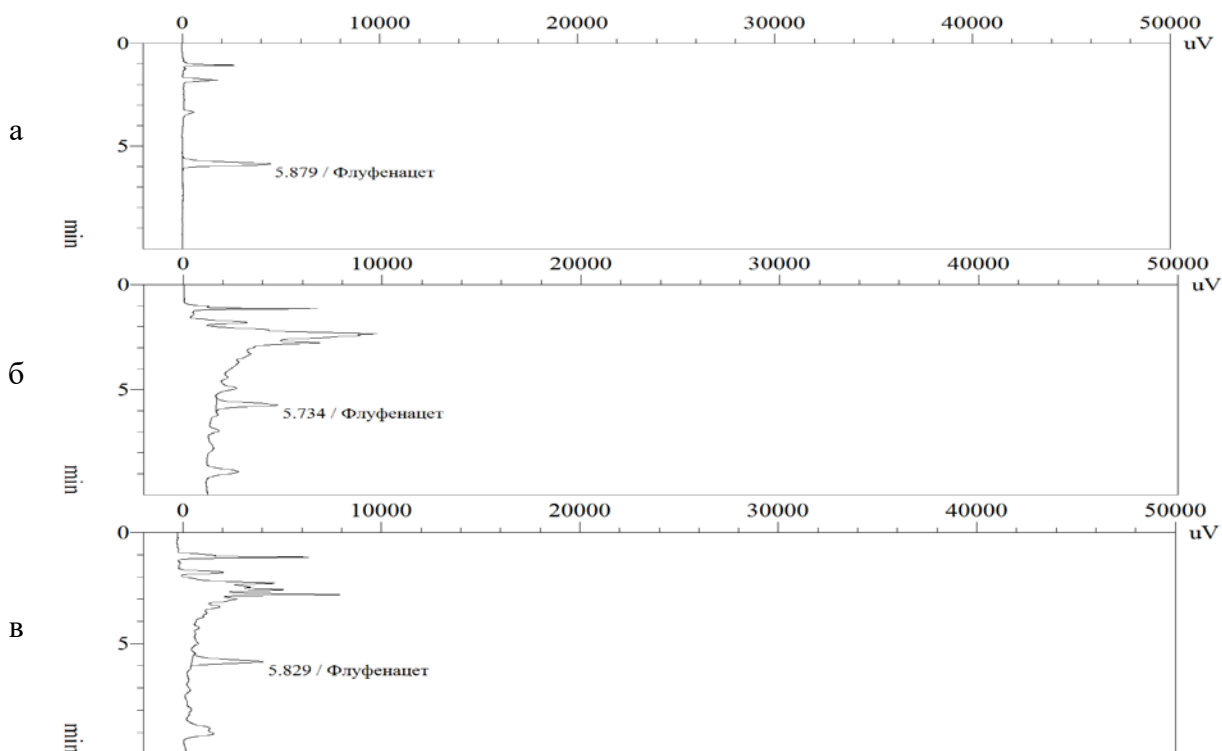


Рис. 4. Хроматограми стандартного розчину флуфенацету та екстрактів проб повітря і води в умовах вискоефективній рідинній хроматографії:
 а - стандартний розчин флуфенацету 1,0 мг/ см³;
 б - проби ґрунту з внесенням флуфенацету 0,1 мг/кг;
 в - проби картоплі з внесенням флуфенацету 0,05 мг/кг.

Таблиця 4

Метрологічні характеристики методик визначання (вимірювання) флуфенацету в об'єктах навколишнього середовища та сільськогосподарській сировині методами газорідинної та вискоефективної рідинної хроматографії

Досліджуваний об'єкт (метод)	МКВ*, мг/м ³ , мг/дм ³ , мг/кг	Діапазон вимірювань, мг/м ³ , мг/дм ³ , мг/кг	Відсоток (ступінь) середнього значення визначання, R, %	Стандартне відхилення (n=12), S, %	Довірчий інтервал, (P=0,95), ± %
Повітря робочої зони (ГРХ)	0,1	від 0,1 до 0,5	92,2	2,6	7,4
Атмосферне повітря (ГРХ)	0,0008	від 0,0008 до 0,04	92,0	2,6	7,4
Вода (ВЕРХ)	0,002	від 0,002 до 0,012	79,5	6,0	3,8
Ґрунт (ВЕРХ)	0,1	від 0,1 до 1,2	70,0	4,2	2,7
Картопля (ВЕРХ)	0,05	від 0,05 до 0,6	79,8	4,2	2,7

Примітка: * МКВ – межа кількісного визначення.

Висновок

Розроблені методи ГРХ і ВЕРХ відповідають сучасним вимогам, є селективними та дозволяють проводити контроль за вмістом флуфенацету в різних об'єктах і можуть бути використані для контролю безпечності повітря робочої зони, атмосферного повітря, води, ґрунту при застосуванні пестицидів на основі сполук класу оksiацетамідів.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Hubert J. Menne, Bernd Laber, Dirk Kerlen & Roland Beffa.** Effectiveness of flufenacet in controlling resistant black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) – comparison of glasshouse and field trial results. *25th German Conference on Weed Biology and Weed Control*. Braunschweig, Germany. March 13-15, 2012. P.401-408. DOI: <https://doi.org/10.5073/jka.2012.434.007>
2. **Zimmerman L.R., Schneider R.J., Thurman E.M.** Analysis and detection of the herbicides dimethenamid and flufenacet and their sulfonic and oxanilic acid degradates in natural water. *J. Agric. Food Chem.* Feb 27, 2002. 50(5). P. 45-52. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf010779b>
3. **Rubia Rasool, Pervinder Kaur, Anil Duhan and Makhan Singh Bhullar** Quantification of flufenacet residues in soil and wheat grain. *Indian Journal of Weed Science*, 2017. N 49(4). P.329–334. DOI: <https://doi.org/10.5958/0974-8164.2017.00087.9>
4. **Турко М.С., Хурсин П.А.** Особенности проведения высокоэффективной жидкостной хроматографии при совместном определении дифлюфеникана, флуфенацета и флуртамона в воздухе рабочей зоны и атмосферы. *Сахаровские Чтения 2018 года: экологические проблемы XXI века*. Материалы 18-й международной научной конференции: в 3 частях. Под редакцией С.А. Маскевича, С.С. Позняка. 2018. С. 101-102. URL: <http://www.elib.bsu.by/handle/123456789/197469>
5. **Novohatska O.O., Milohov D.S., Vavrinevych O.P., Omelchuk S.T., Antonenko A.M.** Analytical support of hygienic control of oxathiapiprolin residual amounts in environmental objects and potatoes. *Medical and Clinical Chemistry*, 2017. Т. 19. N 3. P. 5-10. DOI: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i3.8189>
6. **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 (17). P. 2557–2577. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.200600201>
7. PPDB: Pesticide Properties Data Base. URL: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/>
8. 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). 10 с.
9. 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».

REFERENCES

1. **Hubert J. Menne, Bernd Laber, Dirk Kerlen & Roland Beffa.** Effectiveness of flufenacet in controlling resistant black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds.) – comparison of glasshouse and field trial results. *25th German Conference on Weed Biology and Weed Control*. Braunschweig, Germany. March 13-15, 2012. P. 401-408. DOI: <https://doi.org/10.5073/jka.2012.434.007>
2. **Zimmerman L.R., Schneider R.J., Thurman E.M.** Analysis and detection of the herbicides dimethenamid and flufenacet and their sulfonic and oxanilic acid degradates in natural water. *J. Agric. Food Chem.* Feb 27, 2002. 50(5). P. 45-52. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf010779b>
3. **Rubia Rasool, Pervinder Kaur, Anil Duhan and Makhan Singh Bhullar** Quantification of flufenacet residues in soil and wheat grain. *Indian Journal of Weed Science*, 2017. N 49(4). P.329–334. DOI: <https://doi.org/10.5958/0974-8164.2017.00087.9>
4. **Turko M.S., Khursin P.A.** Osobennosti provedeniya vysokoeffektivnoy zhidkostnoy khromatografii pri sovmestnom ispol'zovanii diflyufenikana, fluorestsentsii i flutamona v vozdukhe rabochey zony i atmosfery. *Sakharovskiye Chteniya 2018 goda: ekologicheskiye problemy XXI*

veka. Materialy 18-y mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii: v 3 chastyakh. Pod redaktsiyey S.A. Maskevicha, S.S. Poznyak. 2018. S. 101-102. [in Russ.] URL: <http://www.elib.bsu.by/handle/123456789/197469>

5. Novohatska O.O., Milohov D.S., Vavrinevych O.P., Omelchuk S.T., Antonenko A.M. Analytical support of hygienic control of oxathiapiprolin residual amounts in environmental objects and potatoes. *Medical and Clinical Chemistry*, 2017. T. 19. N 3. P. 5-10. DOI: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i3.8189>

6. 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 (17). P. 2557-2577. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.200600201>

7. PPDB: Pesticide Properties Data Base. URL: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/>

8. DSTU ISO 8466-1-2001 Yakist vody. Vyznachannya hraduyuvanoi kharakterystyky metodyk kilkisnoho khimichnoho analizu. Chastyna 1. Statystychny otsynyuvannya liniynoyi hraduyuvanoi kharakterystyky (ISO 8466-1:1990, IDT). 10 s. [in Ukr.]

9. Postanova MOZ Ukrayiny N 20 vid 20 kvitnya 1999 r. «Pro vykorystannya norm tochnosti i pravylnosti vymiryuvan pry zdiysnenni kontrolyu za vmistom khimichnykh rechovyn v prodovolchiiy syrovyni, produktakh kharchuvannya i obyektakh dovkillya i vidpovidnosti mizh velychynamy MDR i HDK i hranytsyamy analitychnoho vyznachennya khimichnykh rechovyn». [in Ukr.]

Кафедра гігієни та екології № 1, Інститут гігієни та екології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Надійшло до редакції 26 жовтня 2018 р.