

УДК 543.544.095

ВАВРИНЕВИЧ Е.П., АНТРОПОВ К.Д., ГИРЕНКО Т.В., ШПАК Б.И.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИФЛУФЕНАМИДА И ДИФЕНОКОНАЗОЛА

Изучены условия хроматографического разделения производных бензацетамида и триазола на примере цифлуфенамида и дифеноконазола, используя метод газожидкостной хроматографии с капиллярной колонкой HP-5 и электрозахватным детектором. Разработанная методика была использована для определения микроколичеств цифлуфенамида и дифеноконазола в воздухе, воде, винограде.

Ключевые слова: газожидкостная хроматография, фунгициды, бензацетамиды, триазолы

Визначено умови хроматографічного розділення похідних бензацетаміду та триазолу на прикладі цифлуфенаміду та дифеноконазолу, використовуючи метод газорідинної хроматографії з капілярною колонкою HP-5 та електронзахватним детектором. Розроблена методика була використана для визначення мікрокількостей цифлуфенаміду та дифеноконазолу в повітрі, воді, винограді.

Ключові слова: газорідинна хроматографія, фунгіциди, бензацетаміди, триазоли

Studied conditions for chromatographic separation of benzoacetamid and triazole derivatives by the example of cyflufenamid and difenoconazole, using GLC capillary column HP-5 and electron-capture detector. Developed method was used for determination cyflufenamid and difenoconazole residues in air, water and grapes.

Key words: Gas-liquid chromatography (GLC), fungicide, benzoacetamid, triazole

Введение

Ассортимент препаратов, применяемых для защиты садов и виноградников, постоянно расширяется за счет внедрения смесевых формуляций, в которых каждый компонент проявляет определенное биологическое действие [1]. Применение таких фунгицидов обуславливает необходимость разработки методов контроля их содержания в объектах окружающей среды и сельхозпродукции.

Целью данной работы является определение условий хроматографирования цифлуфенамида и дифеноконазола – действующих веществ препарата Динали 90 ДС, К.Д.

Материалы и методы

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

Стандартные растворы пестицидов (99 %) с концентрациями 0,2-1,0 мкг/мл (цифлуфенамид) и 1,0-5,0 мкг/мл (дифеноконазол) готовили путем растворения в ацетоне.

Для исследования использовали газовый хроматограф «Кристаллюкс-4000М» с капиллярной колонкой HP-5 (30м×0,32 мм).

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

Хроматографирование в тонком слое проведено на пластинах:

1) «Мерк» (Германия) – тип сорбента – силикагель, толщина слоя 250 мкм, размер частиц 10-12 мкм, удельная поверхность 550 м²/г;

2) «Сорбфил» (Краснодар) – тип сорбента – силикагель СТХ-1А, толщина слоя 130 мкм, размер частиц 5-20 мкм удельная поверхность 350 м²/г;

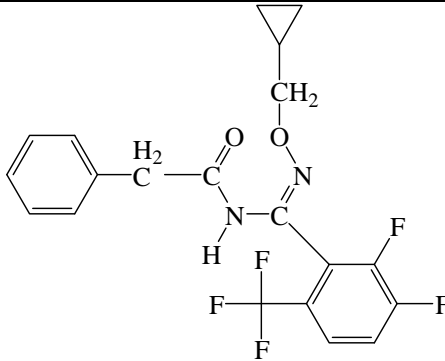
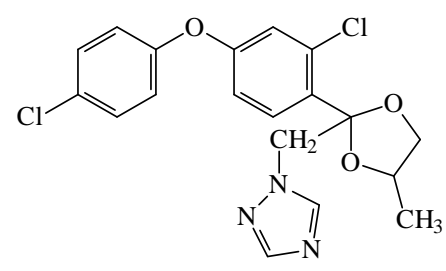
Идентификация веществ на пластинках проведена с использованием хроматоскопа Camag UV-lamps (TLC lab).

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

Из ягод винограда цифлуфенамид и дифеноконазол экстрагировали смесью ацетон-дихлорметан, с последующей очисткой на концентрирующем патроне.

Таблица 1

Физико-химические свойства цифлуфенамида

Характеристика	Цифлуфенамид	дифеноконазол
Химическое название по ИЮПАК	(z)-N[α-(циклопропил метоксиимино)-2,3 дифлуоро-6-(трифторметил) бензил]-2 фенилацетатамид	[цис, транс-3-хлор-4[4-метил-2-(1H-1,2,4-триазол-1-ил-метил)-1,3-диоксолан-2-ил-] фенил-4-хлорфенилэфир
Структурная формула		
Молекулярная масса	412,36	406,3
Давление пара, мм рт.ст.	2,66×10 ⁻⁷	9×10 ⁻¹⁰
Растворимость в воде, г/л (20 °С)	0,52	16,0

Результаты исследований и их обсуждение

В литературе описаны методы определения замещенных триазолов и некоторых производных бензацетамида, основанные на использовании газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии, которые позволяют определять индивидуальные соединения в отдельных матрицах [2-4].

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

При экспериментальном изучении хроматографических параметров разделения изучаемых соединений выбирали условия, при которых достигалось бы удовлетворительное разделение компонентов и, в то же время, коэкстрактивные вещества в экстрактах производственных проб не мешали определению.

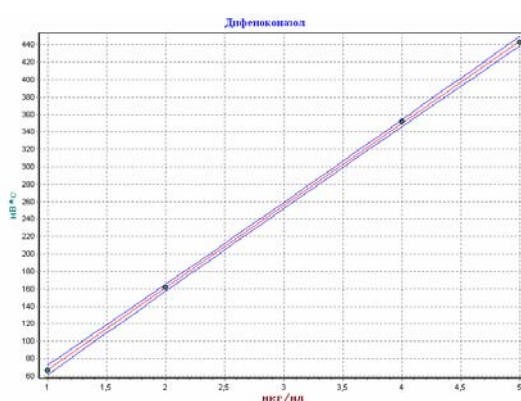
Проведенные исследования позволили установить оптимальные условия хроматографирования для цифлуфенамида и дифеноконазола (таблица 2).

В соответствии с требованиями международного стандарта проведена статистическая обработка линейной калибровочной функции (рис. 1, рис. 2). По программе, составленной с учетом требований ИСО [5], рассчитаны рабочие характеристики, построены градуировочные графики и рассчитаны пределы количественного определения дифеноконазола и цифлуфенамида.

Таблица 2

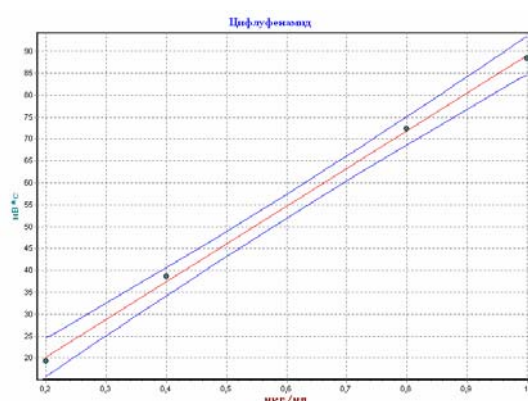
Условия хроматографического разделения цифлуфенамида и дифеноконазола

Характеристики метода определения	цифлуфенамид + дифеноконазол
Тип детектора	Электронно-захватный
Тип хроматографической колонки	Капиллярная НР-5
Размер хроматографической колонки	30 м×0,32 мм
Толщина внутреннего слоя	0,25 мкм
Газ-носитель	Азот (режим постоянного давления)
Температура термостата колонки	250±2 °С
Температура работы детектора	280±2 °С
Температура испарителя	260±2 °С
Объемный расход газа носителя (азот)	30 см ³
Объем введенной пробы	2 мкл
Время удерживания цифлуфенамида	4,09±0,1 мин
Время удерживания дифеноконазола: (изомер №1) (изомер №2)	17,80±0,1 мин
	18,20±0,1 мин
Программное обеспечение	NetChrom



Данные	X1	X2	X3	X4	Средние
Предикторы Xi	1	2	4	5	3
Отклики Yi					
Y1	75	161	322	418	
Y2	71	156	340	444	
Y3	62	157	343	440	
Y4	53	154	394	445	
Y5	72	179	360	468	
Среднее	66.6	161.4	351.8	443	255.7
Ст. отклонение	9.017	10.16	27.17	17.78	16.0316
Отн. Ст. отклонение (%)	13.5	6.3	7.72	4.01	7.8825
a + bx	67.06	161.4	350	444.3	255.7
Кoeffициенты регрессии	-27.26	94.32			
Стат. веса					

Рис. 1. Градуировочный график дифеноконазола

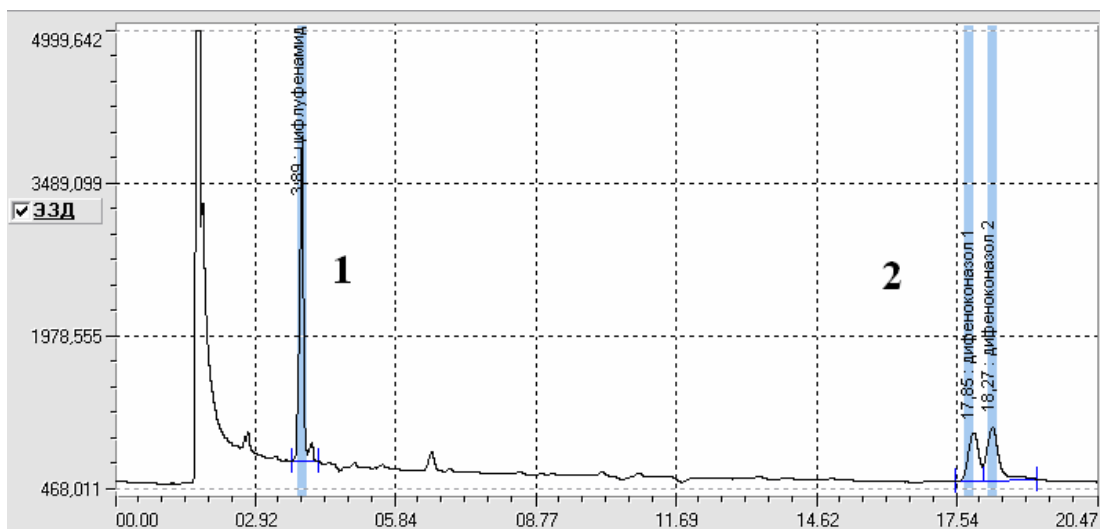


Данные	X1	X2	X3	X4	Средние
Предикторы Xi	0,2	0,4	0,8	1,0	0,6
Отклики Yi					
Y1	20	42	74	89	
Y2	16	40	71	77	
Y3	21	37	69	89	
Y4	19	37	75	96	
Y5	20	37	73	91	
Среднее	19.2	38.6	72.4	88.4	54.65
Ст. отклонение	1.924	2.302	2.408	6.986	3.40493
Отн. Ст. отклонение (%)	10	5.96	3.33	7.9	6.7975
a + bx	20.21	37.43	71.87	89.09	54.65
Кoeffициенты регрессии	2.99	86.1			
Стат. веса					

Рис. 2. Градуировочный график цифлуфенамида

На рис. 3 приведена хроматограмма стандартного раствора цифлуфенамида и дифеноконазола (3а), хроматограмма пробы воздуха, отобранного над обработанным участком (3б); хроматограмма пробы винограда (3в). Как следует из представленных данных,

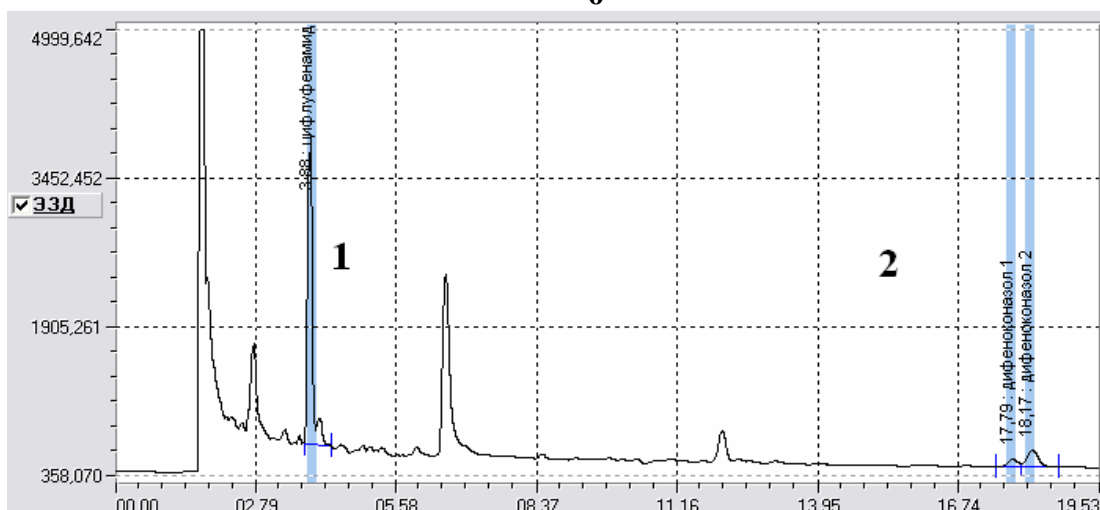
при температуре колонки 250 °С полностью разделены цифлуфенамид и дифеноконазол (цис- и транс- изомеры), а коэкстрактивные вещества не мешают разделению.



а



б



в

Рис. 3. Хроматограммы растворов:

а – стандартный раствор смеси цифлуфенамида (1) и дифеноконазола (2), 2 мкг/мл; **б** – проба воздуха; **в** – проба винограда

В скрининговых исследованиях для идентификации органических соединений дополнительным инструментом остается тонкослойная хроматография [6, 7].

Проведена оценка разделения цифлufenамида и дифеноконазола на пластинках «Сорбфил» и «Мерк» в различных подвижных фазах (гексан, ацетон, хлороформ).

Наиболее удовлетворительное разделение было достигнуто в подвижной фазе гексан-ацетон (3:2) на пластинках «Сорбфил». Под хроматоскопом идентифицированы 2 вещества – цифлufenамид (в виде светлого пятна) и дифеноконазол в виде 2 пятен темного цвета (цис- и транс- изомеры).

При идентификации исследуемых соединений в слое сорбента с использованием различных детектирующих реагентов (бромфенолового синего, реактива Драгендорфа, серебра азотнокислого и др.) было установлено, что при проявлении бромфеноловым синим дифеноконазол образует комплекс ярко-голубого цвета, в то время как цифлufenамид не обнаруживается. Таким образом, метод тонкослойной хроматографии может быть использован ограниченно, только для выявления дифеноконазола.

Выводы

Показана возможность одновременного определения действующих веществ препарата Динали 90 ДС, К.Д. в производственных пробах воздуха и пробах винограда.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Белан С.Р.** Новые достижения в химии фунгицидов // *Агрехимия*. – 2003. – № 11. – С. 27-32.
2. **Yang W., Shen W., Zhao Z. Xu J., Shen C., Wu B.** Determination of cyflufenamid residue in carrots by gas chromatography-negative ionization mass spectrometry // *Chinese Journal of Chromatography*. – 2008. – № 4. – P. 526-528.
3. **European Food safety Authority ESFA** Reasoned opinion on the modification of the existing MRL for cyflufenamide in strawberries and peppers // *ESFA Journal*. – 2013. – № 11 (7).
4. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: Справочник. Т. 1. / [сост. Клисенко М.А., Калинина А.А., Новикова К.Ф. и др.]. – М.: Колос, 1992. – 567 с.
5. **Макарчук В.М., Макарчук Т.Л., Макарчук Я.В.** Компьютерная программа «Статистическая обработка измерений и построение калибровочных зависимостей». Версия: 9.1.8.326. - 2012.
6. **Sakaliene O.** Validation of thin-layer chromatographic screening methods for pesticide residue analysis // *Book of abstracts 10th IUPAC International congress on the Chemistry of Crop Protection*, 4-9 August, 2002. – Basel, Switzerland. – P. 207.
7. **Шандеренко С.Г., Головин А.С., Дмитриенко М.П., Юрченко А.І., Бабичева О.Ф.** Комп'ютерна реєстрація та аналіз результатів тонкошарової хроматографії // *Журнал хроматографічного товариства*. – 2002. – № 4. – С. 22-30.

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

*Надійшло до редакції
10.06.2014*