

УДК 543.06:543.89

ВИЗНАЧЕННЯ ГЕКСАФЛУМУРОНУ МЕТОДОМ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Мага І.М.^{1,2}, Маркович М.І.², Шарга Б.М.^{1,2}

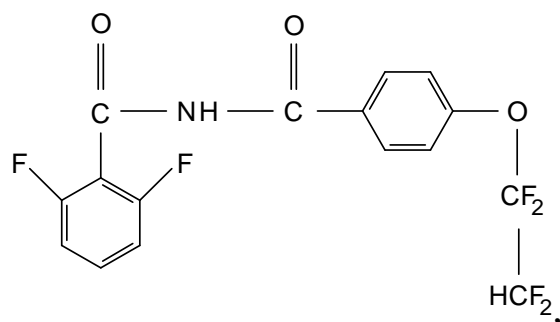
¹Ужгородський національний університет,
88000 м. Ужгород, вул. Підгірна 46, Україна

²Ужгородська прикордонна державна контрольно-токсикологічна лабораторія,
88000 м. Ужгород, вул. Станційна, 56, Україна

Інтенсивні технології вирощування практично всіх сільськогосподарських культур передбачають надійний хімічний захист від шкідливих організмів [1, 2], у тому числі, від значної чисельності видів комах [3, 4, 5].

В практиці захисту врожаїв від шкідників і хвороб гостру актуальність здобуває проблема визначення їх залишкових кількостей в харчовій продукції [6], сільськогосподарських угіддях [7] і об'єктах навколишнього середовища [8, 9]. Така необхідність диктується як, у ряді випадків, достатньо високою шкідливістю інсектицидів для людини і фауни, так і фітотоксичними наслідками інсектицидів на культури, що їх вирощують.

Нами досліджувались умови визначення Гексафлумурону (ГФ), діючої речовини інсектициду "Сонет" розробленого фірмою "Dow AgroSciences" (Австрія) [10, 11]. Хімічна формула Гексафлумурону має вигляд:



а хімічна назва - N-[3,5-дихлор-4-(1,1,2,2-тетрафторетоксифеніл)аміно]карбоніл-2,6-дифторбензамід, ГДК у воді 0,01 мг/дм³.

Для визначення діючої речовини препарату "Сонет" запропоновано метод газо-рідинної хроматографії [12], але визначення ГФ даним методом потребує відповідного апаратного обладнання [13], тому важливе значення має розробка простих та доступних методів визначення, зокрема ТШХ [14, 15].

Ми досліджували умови визначення ГФ методом тонкошарової хроматографії.

Експериментальна частина.

Основний стандартний розчин ГФ з концентрацією 100 мкг/мл готували розчиненням в ацетоні точної наважки аналітичного стандарту Гексафлумурону фірми "Dow AgroScitnces".

Розчин зберігали в холодильнику до 1 місяця. Робочі стандартні розчини ГФ меншої концентрації готували з основного стандартного розчину відповідним поступовим розведенням ацетоном в день використання.

Розчини 0,5% Бромфенолового синього та 1% 1-нафтиламіну готували розчиненням відповідної наважки реактиву в ацетоні; 1,5% Калій перманганату та 1% Крохмалю в дистильованій воді; 0,05 % розчин AgNO₃ готували розчиненням відповідної наважки реактиву у водно-ацетонному розчині та амоніаку.

Органічні розчинники – Гексан, Хлороформ, Толуен, Етилацетат; кислоти – HCl, луги – NaOH, KOH використовували кваліфікації х.ч. або ос.ч.

Концентрацію гідроген-іонів у розчинах контролювали за допомогою іономіру ЭВ-74.

Розрахунок площ плям виконували скануванням хроматографічної пластинки та комп'ютерною обробкою даних за допомогою програми "ДенситоАналіз".

Результати та їх обговорення.

Для підбору ефективного елюента досліджували одно- та двохкомпонентні суміші органічних розчинників, таких, як Гексан, Ацетон, Хлороформ, Толуен, Етилацетат.

В результаті наших експериментів встановлено, що елюенти 1-3 (табл.1), які є двохкомпонентною сумішшю Гексан-Ацетон в різних співвідношеннях не зрушили нанесеної плями з лінії старту на пластині. Рухомі фази 4-8, що складаються з органічних розчинників Гексан-Хлороформ та рухомі фази 9, 11, що складаються з органічних розчинників Хлороформ – Толуен, в незначній мірі відносять пляму ГФ від лінії старту, тобто створює низькі значення R_f . Елюент, що є сумішшю Етилацетат - Хлороформ навпаки надзвичайно активний і відносить пляму на лінію фінішу. На основі наших досліджень встановлено, що найефективнішим елюентом виявилася суміш хлороформ-толуен у об'ємних співвідношеннях 2:1, R_f становить 0,43.

Таблиця 1.

Підбір елюанту для визначення гексафлумурону

№ з/п	Компоненти рухомої фази		Об'ємні співвідношення компонентів		R_f
	А	В	А	В	
1	Гексан	Ацетон	4	1	-
2	Гексан	Ацетон	1	1	-
3	Гексан	Ацетон	1	4	-
4	Гексан	Хлороформ	4	1	0,09
5	Гексан	Хлороформ	2	1	0,11
6	Гексан	Хлороформ	1	1	0,14
7	Гексан	Хлороформ	1	2	0,16
8	Гексан	Хлороформ	1	4	0,17
9	Хлороформ	Толуен	1	1	0,10
10	Хлороформ	Толуен	2	1	0,43
11	Хлороформ	Толуен	1	2	0,12
12	Етилацетат	Хлороформ	1	4	0,86
13	Етилацетат	Хлороформ	1	2	0,89
14	Етилацетат	Хлороформ	1	1	0,91
15	Етилацетат	Хлороформ	2	1	0,93

Для візуалізації плями проводився підбір проявників. В якості проявників використовували 0,5% розчин Бромфенолового синього, 1,5% розчин

Калію перманганату, пари Йоду + розчин Крохмалю, 1% розчин Нафтіламіну (табл.2).

Таблиця 2.
Підбір проявника для визначення гексафлумурону

№ з/п	Проявник	Візуальний ефект	Стабільність	Чутливість, мкг
1	0,5 % розчин Бромфенолового синього	Не спостерігається	-	-
2	1,5 % розчин KMnO_4	Жовті плями на малиновому фоні	Стійкі	6-13
3	Пари I_2 + розчин крохмалю	Темнокоричневі плями на жовтому фоні	Стійкі 2 доби	9-14
4	1 - нафтиламін 1% р-н	Не спостерігається	-	-
5	0,05 % Аміачний розчин AgNO_3 + УФ-світло	Сині плями на сірому фоні	Стійкі 1 – 1,5 години	0,6 - 10

При використанні першого та четвертого з перерахованих проявників не спостерігається візуального ефекту проявлення.

При використанні в якості проявника парів йоду та розчину крохмалю спостерігається проявлення ГФ у вигляді темно-коричневих плям на жовтому фоні. Лінійна залежність площі плями від концентрації здійснюється в межах 9 - 14 мкг. Проміжок лінійної залежності площі плями від концентрації ГФ при використанні розчину KMnO_4 становить 6 – 13 мкг. Серед досліджених проявників найефективнішим виявився 0,05% аміачний розчин AgNO_3 + УФ-світло. Тут проміжок лінійної залежності площі плями від концентрації ГФ становить 0,6 – 10 мкг (рис.1), проявляються сині плями на сірому фоні).

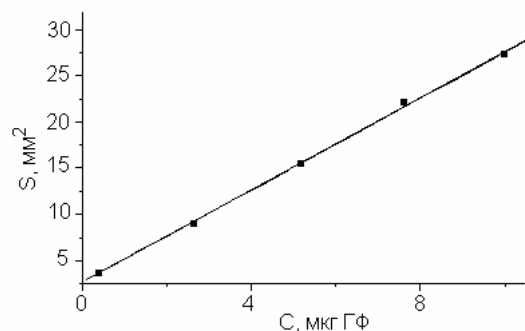


Рис.1. Залежність площі плями від концентрації Гексафлумурону. Проявник 0.05% аміачний розчин AgNO_3 + УФ-світло. Рухома фаза Хлороформ - Толуен = 2 : 1 (об. + об.).

Досліджено умови вилучення ГФ з водних розчинів інсектициду "Сонет". В якості екстрагентів використовували Гексан, Ацетон, Хлороформ, Толуен та Етилацетат. Максимальне вилучення ГФ в органічну фазу спостерігається при використанні в якості екстрагента Хлороформу.

Одним з найважливіших факторів, які визначають рівновагу переведення ГФ в органічну фазу, є концентрація гідроген-іонів. Кислотність середовища створювали за допомогою Гідроген хлоридної кислоти та Натрій гідроксиду. Найбільш повне вилучення ГФ спостерігається в середовищах, близьких до нейтрального в межах рН 5 - 8 (рис.2).

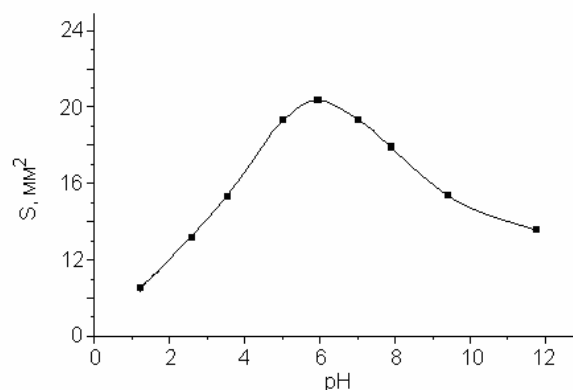


Рис.2. Залежність повноти вилучення Гексафлумурону від рН середовища. Проявник - 0.05% аміачний розчин AgNO_3 + УФ-світло. Рухома фаза Хлороформ - Толуен = 2 : 1 (об.). Екстрагент-Хлороформ

Вивчено повноту вилучення ГФ від часу екстракції. Встановлено, що максимальна повнота вилучення ГФ спостерігається при струшуванні водної та органічної фази на протязі 8 хвилин. Досліджували також ступінь вилучення ГФ від кратності екстракції та кількості екстрагента. Найбільш повна екстракція спостерігається при здійсненні трикратної екстракції хлороформом по 100 мл (рис.3). На основі одержаних даних розроблена методика визначення ГФ у стічних водах методом тонкошарової хроматографії.

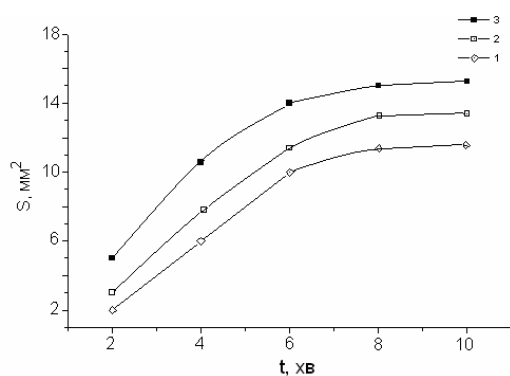


Рис.3. Залежність повноти вилучення Гексафлумурону від часу екстракції. 0.05% аміачний розчин AgNO_3 + УФ-світло. Рухома фаза Хлороформ - Толуен = 2 : 1 (об.). Екстрагент – Хлороформ; рН 7.

Методика визначення Гексафлумурону у стічних водах методом тонкошарової хроматографії.

В діляльну воронку місткістю 2л поміщають 1000 мл проби води, додають 100 мл хлороформу. Суміш струшують на протязі 8 хв. Після розділення шарів нижній шар відокремлюють, а водну фазу струшують ще два рази, екстрагуючи по 100 мл хлороформом. Об'єднаний екстракт висушують безводним Динатрій сульфатом (VI). Після висушування екстракт фільтрують через фільтр "синя стрічка". Потім випарюють хлороформ при температурі не вище 50°C досуха. Сухий залишок розчиняють в ацетоні і наносять на хроматографічну пластинку "Сорбфил". На цю ж пластинку наносять від 0,6 до 10 мкг

ГФ у вигляді розчину в ацетоні і проводять хроматографування в рухомій фазі: хлороформ - толуен = 2 : 1 (об.). Після віддалення лінії фронту елюента від лінії старту на 10 см, пластинку виймають, висушують при кімнатній температурі у витяжній шафі до повного видалення слідів розчинників. Для виявлення ГФ пластинку обробляють 0.05% аміачним розчином AgNO_3 + УФ-світло.

Висновки

Досліджено умови визначення крезоксим метилу методом тонкошарової хроматографії. Серед вивчених елюентів для практичних цілей найбільш придатний елюент, що є сумішшю органічних розчинників хлороформ - толуен = 2 : 1 (об.). Максимальне вилучення ГФ спостерігається в межах рН 5 – 8 хлороформом. Розроблена методика визначення Гексафлумурону в стічних водах.

Література

1. Федоренко В.П., Ретьман С.В. Актуальні питання захисту посівів. Як підвищити рівень захисту сільськогосподарських культур від шкідників і хвороб. // Карантин і захист рослин. – 2009, № 3. С. 1 – 5.
2. Федоренко В.П., Чайка В.М., Неверовська Т.М., Бакланова О.В., Кравченко О.М. Фітосанітарний стан агроценозів в Україні у 2008 році та прогноз розвитку шкідливих організмів на 2009 рік // Карантин і захист рослин – 2009, № 4. С. 1 – 4.
3. Прогноз фітосанітарного стану агроценозів України та рекомендації щодо захисту рослин у 2009 році / за ред. Довгань С.В., Сядриста О.Б. – К.: Головдержзахист. – 2009. 208 с.
4. Довідник із захисту рослин/ Бублик Л.І., Васечко Г.І., Васильєв В.П. та ін./ За ред. Лісового М.П. – К.: Урожай, 1999. – 744 с.
5. Шестопап З.А., Файфер Д.Г., Шестопап Г.О. Довідник з інтегрованого захисту плодово-ягідних культур від шкідників і хвороб. - 1999. Львів: 240 с.
6. Сычев С.Н., Гаврилина В.А., Музалевская А.С. Высокоэффективная жидкостная хроматография как метод определения фальсификации и безопасности продукции. М.: ДеЛи принт. – 2005. – 148 с.
7. Шевчук О.В. Враховуємо екологічний ризик. Прийняття рішення про застосування

- пестицидів за інтегрованого захисту посівів. // карантин і захист рослин. – 2009, № 3 С. 5 – 7.
8. Лунев М.И. Пестициды и охрана агрофитоценозов. – М.: Колос. 1992, 269с.
9. Туманов А.А. Биоаналитика и экомониторинг // Журн. аналит. химии – 2005, Т. 60. - С. 1236 – 1238.
10. Перелік пестицидів та агрохімікатів дозволених до використання в Україні. Офіційне видання. К.: Юніверс Медіа. 2008 - 448 с.
11. Доповнення до переліку пестицидів та агрохімікатів дозволених до використання в Україні. Офіційне видання. К.: Юніверс Медіа. 2009 - 304 с.
12. Исаева С.С., Кругляк Т.И. Методические указания по определению Гексафлумурона в яблоках методом газожидкостной хроматографии / Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в пищевых продуктах, кормах и внешней среде. Сборник № 26. – К.: Укрроскомиссия. – 2000. – С. 102 – 105.
13. Бельтюкова С.В., Малинка Е.В., Бойченко В.Д., Теслюк О.И., Ливенцова О.Е. Определение норфлоксацина в мясных и рыбных продуктах методом тонкослойной хроматографии. // Журнал хроматографического товариства. – 2005, Т. 5. № 1. – С. 14 – 20.
14. Пашко В.В., Улогов В.О. Определение аминокислот с помощью метода высокоэффективной тонкослойной хроматографии. // Журн. хроматографического товариства. – 2006, Т. 6. № 2. – С. 20 – 26.
15. Sherma J. Determination of pesticides by thin-layer chromatography // J. journal planar chromatography-modern TLC. – 1994. - V. 7. P. 265 – 272.

STUDY OF CONDITIONS FOR DETERMINATION OF CRESOXYM-METHYL BY THE METHOD OF THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

Maga I.M., Markovich M.I., Sharga B.M.

The conditions for Hexaflumurone determination by thin layer chromatography were studied. The maximum extraction of Hexaflumurone I was observed in chloroform at pH 5-8. The chloroform/toluene mixture (2/1, v/v) was best for the development of the thin layer chromatography plates. The method Hexaflumurone determination into sewage waters was developed in this study.