

УДК 543.06:543.89

ДОСЛІДЖЕННЯ УМОВ ВИЗНАЧЕННЯ ФЛУДИОКСОНІЛУ МЕТОДОМ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Мага І.М.^{1,2}, Шарга Б.М.^{2,1}, Гайду В.Ю.¹

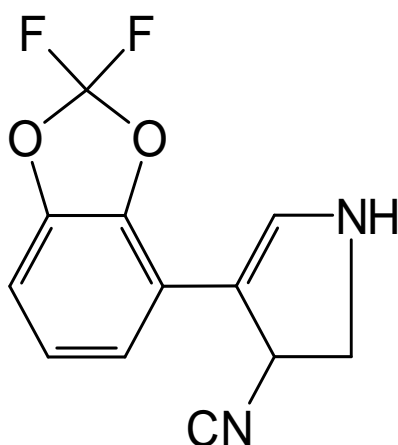
¹Ужгородська прикордонна державна контрольно-токсикологічна лабораторія, 88000,
м. Ужгород, вул. Станційна, 56

²ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, 88000, м. Ужгород,
вул. Підгірна, 46

Для підвищення ефективності сільського господарства широко використовують засоби захисту рослин [1 - 3], важливе місце серед яких посідають протруйники насіння. Разом з тим, вони є високотоксичними сполуками для людей та теплокровних тварин [4, 5]. Тобто, широке застосування пестицидів і їх висока токсичність потребують всебічного контролю цих сполук у об'єктах навколишнього середовища [6, 7].

В роботі досліджувалися умови визначення флудиоксонілу (ФО), діючої речовини препарату для протруювання насіння “Максим”, розробленого швейцарською фірмою “Syngenta” (Базель, Швейцарія). Препарат застосовується для обробки насіння озимої пшениці, кукурудзи, льону гороху та ін. [8].

Хімічна формула ФО має вигляд:



а хімічна назва препарату - 4-(2,-дифлуор-1,3бензодіоксол-4-іл)-1Н-пірол-3-карбонітрил. Для визначення за допомогою ВЕРХ препарату розроблено методику [9]. Однак, вказаний метод є досить дорогим,

потребує складного апаратурного забезпечення. Тому розробка нових доступних методів, що дозволяють проводити визначення з необхідною точністю, є актуальною. До таких методів відноситься, зокрема, тонкошарова хроматографія, що має широке застосування для визначення різних сполук та постійно розвивається [9 - 15].

В роботі досліджувалися умови визначення ФО методом тонкошарової хроматографії.

Експериментальна частина

Стандартний розчин ФО з концентрацією 100 мкг/мл готували розчиненням в ацетоні точної наважки аналітичного стандарту Римсульфурону фірми “Syngenta” (Базель, Швейцарія).

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

0,5% розчин Бромфенолового синього готували розчиненням відповідної наважки реактиву в ацетоні.

0,05% розчин AgNO_3 готували розчиненням відповідної наважки реактиву у водно-ацетоновому розчині та амоніаку.

1,5% розчин Калій перманганату 2 % Лимонної к-ти та 1 % Крохмалю готували розчиненням відповідної наважки реактиву в дистильованій воді.

Всі використані реагенти були 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 "ТШХ-менеджер".

Результати та їх обговорення

Для підбору ефективного елюента досліджувались одно-, дво- та трикомпонентні суміші органічних розчинників, таких, як Гексан, Толуен Хлороформ, Ацетон, Етилацетат та Ацетатна кислота.

В результаті експериментальних досліджень встановлено (табл. 1), що елюенти 1-3, які є двохкомпонентною сумішшю Гексан – Ацетон в різних співвідношеннях (табл.1), та елюент 11, що є двокомпонентною сумішшю Хлороформ - Толуен 1 :2 не зрушили нанесеної плями з лінії старту. Рухомі фази 4 - 10, що складаються з сумішей органічних розчинників Гексан – Хлороформ та Хлороформ - Толуен, в різних співвідношеннях (табл.1) в незначній мірі відносять пляму ФО від лінії старту, тобто створюють низькі значення R_f .

Таблиця 1

Підбір рухомої фази

| № з/п | Компоненти рухомої фази | | Обємні 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 | 0,08 |
| 5 | Гексан | Хлороформ | 2 | 1 | 0,10 |
| 6 | Гексан | Хлороформ | 1 | 1 | 0,11 |
| 7 | Гексан | Хлороформ | 1 | 2 | 0,12 |
| 8 | Гексан | Хлороформ | 1 | 4 | 0,14 |
| 9 | Хлороформ | Толуен | 1 | 1 | 0,11 |
| 10 | Хлороформ | Толуен | 2 | 1 | 0,14 |
| 11 | Хлороформ | Толуен | 1 | 2 | - |
| 12 | Етилацетат | Хлороформ | 1 | 4 | 0,97 |
| 13 | Етилацетат | Хлороформ | 1 | 2 | 0,94 |
| 14 | Етилацетат | Хлороформ | 1 | 1 | 0,92 |
| 15 | Етилацетат | Хлороформ | 2 | 1 | 0,92 |
| 16 | Толуен | Ацетатна кислота | 1 | 3 | 0,99 |
| 17 | Толуен | Ацетатна кислота | 1 | 2 | 0,99 |
| 18 | Толуен | Ацетатна кислота | 1 | 1 | 0,95 |
| 19 | Толуен | Ацетатна кислота | 2 | 1 | 0,93 |
| 20 | Толуен | Ацетатна кислота | 5 | 1 | 0,47 |

Рухомі фази 12 -19, що є двокомпонентними сумішами Етилацетат - Хлороформ та Толуен - Ацетатна кислота у певних співвідношеннях (табл. 1), навпаки, надзвичайно афінні до досліджуваної сполуки і відносять пляму майже на лінію фінішу.

На основі експериментальних досліджень встановлено, що найефективнішим елюентами елюентом є

рухома фаза 20, що є двокомпонентна суміш Толуен - Ацетатна кислота у об'ємних співвідношеннях 5 : 1; R_f становить 0,47.

Для візуалізації плями проводився підбір проявників. В якості проявників використовували 1,5 % розчин Калію перманганату, пари Йоду + розчин Крохмалю, аміачний розчин Аргентуму нітрату + УФ-світло та 0,5 % розчин Бромфенолового синього + Лимонна кислота (табл.2).

Таблиця 2
Підбір проявника

| № з/п | Проявник | Візуальний ефект | Стабільність | Діапазон визначення, мкг |
|-------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------|--------------------|--------------------------|
| 1 | 1,5 % р-н $KMnO_4$ | Жовті плями на малиновому фоні | 1 год | 21 - 35 |
| 2 | Пари I_2 + р-н Крохмалю | Не спостерігається | - | - |
| 3 | 0,05 % аміачний розчин $AgNO_3$ + УФ-світло | Сині плями на сірому фоні | Стійкі 2 години | 0,7 - 14 |
| 4 | 0,5 % р-н Бромфенолового синього + 2% на Лимонна кислота | Темні плями на лимонно-жовтому фоні | Стійкі 3-3,5 годин | 0,3 - 11 |

При використанні в якості проявника розчину Калій перманганату ФО проявляється у вигляді жовтих плям на малиновому фоні (табл. 2). Але вказаний проявник створює слабку стійкість плями ФО та невисоку чутливість. При використанні як проявника парів Йоду та розчину Крохмалю не спостерігається візуального ефекту проявлення (табл. 2). Аміачний розчин Аргентуму нітрату + УФ-світло проявляє ФО у вигляді синіх плям на сірому фоні. Лінійна залежність площі плями від концентрації спостерігається в межах 0,7 – 14 мкг, плями стійкі на протязі 2 год. (табл. 2). Серед досліджених проявників найефективнішим виявився 0,5 %-ний розчин Бромфенолового синього + 2% Лимонної кислоти. При цьому ФО проявляється у вигляді темних плям на лимонно-жовтому фоні. Діапазон визначення складає 0,3-11 мкг (табл 2, рис.1), плями стійкі на протязі 3-3,5 год.

Досліджено умови вилучення ФО з водних розчинів препарату для протруєння насіння "Максим". В якості екстрагентів використовували Гексан,

Дихлоретан, Хлороформ, Тетрахлоркарбон, Етилацетат та Бутилацетат. Встановлено, що вилучення РС в органічну фазу максимальне при використанні в якості екстрагента Хлороформу.

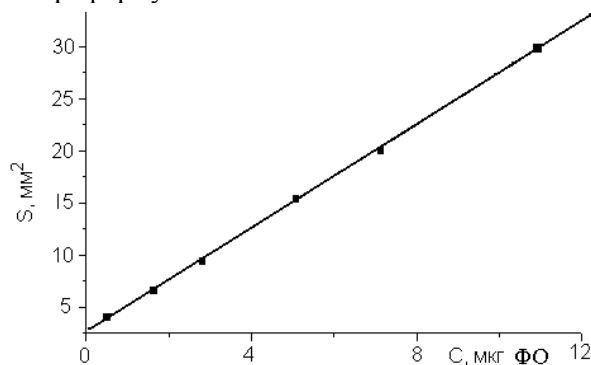


Рис.1. Залежність площі плями від концентрації Флудиоксонілу. Проявник 0,5 % розчин Бромфенолового синього + 2 % Лимонна кислота. Рухома фаза: Толуен – ацетатна кислота = 5 : 1.

Одним з найважливіших факторів, що визначають рівновагу переведення ФО в органічну фазу є концентрація гідроген-іонів. Найбільш повне вилучення ФО спостерігається

в середовищах, близьких до нейтрального в межах рН 5-9 (рис.2).

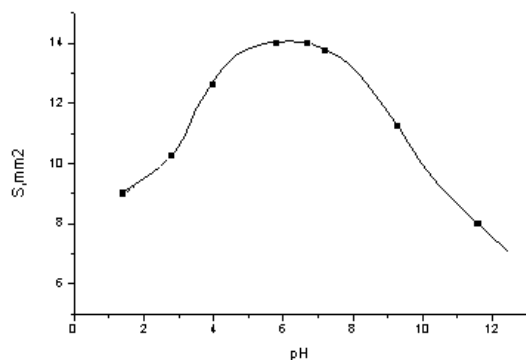


Рис.2. Залежність повноти вилучення Рімфосульфурону від рН середовища. Проявник 0,5 % розчин Бромфенолового синього + 2 % Лимонна кислота. Рухома фаза: Толуен – ацетатна кислота = 5 : 1.

Вивчено повноту вилучення РС від часу екстракції. Встановлено, що максимальна повнота вилучення РС спостерігається при струшуванні водної та органічної фази на протязі 8 хвилин. Найбільш повна екстракція спостерігається при здійсненні трикратної екстракції Хлороформом порціями по 100 мл. (рис.3). На основі одержаних даних розроблена методика визначення ФО у водах методом тонкошарової хроматографії.

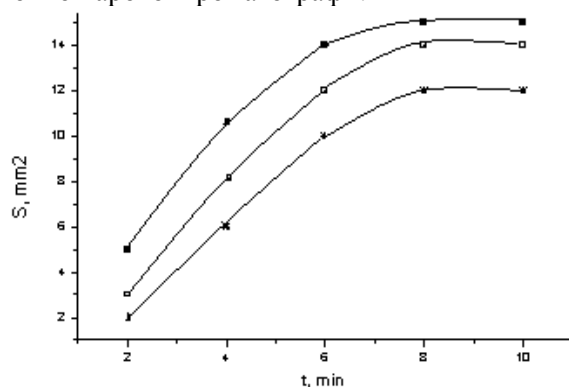


Рис.3. Залежність повноти вилучення Флудиоксонілу від часу екстракції: 1 - однократна екстракція, 2 – двохкратна екстракція, 3 – трьохкратна екстракція. Проявник 0,5 % розчин Бромфенолового синього +2% Лимонна кислота. Рухома фаза: Толуен – ацетатна кислота = 5 : 1. Екстрагент: Хлороформ; рН 7.

Методика визначення Флудиоксонілу в стічних водах методом тонкошарової хроматографії.

В ділительну воронку місткістю 2 л поміщають 1000 мл проби води, додають 100 мл Хлороформу. Суміш струшують на протязі 8 хв. Після розділення нижній шар відокремлюють, а водну фазу струшують ще два рази по 100 мл. Об'єднаний екстракт висушують безводним Динатрій сульфатом (VI). Після висушування екстракт фільтрують через фільтр "синя стрічка" і випарюють Хлороформ (при температурі не вище 50°C). Сухий залишок розчиняють в Ацетоні і наносять на хроматографічну пластинку "Сорбфіл". На цю ж пластинку наносять від 0,3 до 12 мкг ФО у вигляді розчину в Ацетоні і проводять хроматографування в рухомій фазі: Толуен – ацетатна кислота = 5 : 1.(об). Після віддалення лінії фронту елюента від лінії старту на 10 см, пластинку виймають, висушують у витяжній шафі при кімнатній температурі та ідентифікують плями ФО.

Висновки

Досліджено умови визначення Флудиоксонілу методом тонкошарової хроматографії.

Як елюенти вивчено 19 рухомих фаз, які є двокомпонентними сумішами органічних розчинників. Підібрано проявник для ФО та встановлено межі визначення методом ТШХ. Розроблено нову методику визначення ФО у водах методом ТШХ.

Література

1. Сельское хозяйство. БЭС. – М.: Большая российская энциклопедия. – 1998. - 656 с.
2. Лісовий М.П., Трибель С.О. Інтегрований захист основа сучасних технологій // Захист рослин. – 1998, № 5. – С. 4 – 5.
3. Секун М.. Комплексне застосування пестицидів. //Пропозиція. – 2001, № 8 – 9. – С. 66 – 68.
4. Roinedsted K.S., Lois J.B., Rosen J. D. Determination of pesticides in indoor air and dust // Journal of AOAC international. 1993. N 5 P. 1121 – 1126
5. Шкаруба М.Г. Гігієна застосування пестицидів //Захист рослин. 1998, № 9. – С. 22 – 23.
6. Довідник із захисту рослин /Бублик Л.І.,

Васечко Г.Й., Васильев В.П. та ін. За ред. акад. УААН Лісового М.П. – К.: Урожай. -1999.- 744 с.

7. Пономаренко С.П. За менших доз пестицидів. //Захист рослин. – 2001, № 11. – С. 5 – 6.

8. Перелік пестицидів та агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. Офіційне видання. К.: Юнівест Медіа - 2010 - 544 с.

9. Новицкий В.Ф., Марусич Н.И, Капуцкая В.К. Методические указания по определению флудиоксонила в воздухе рабочей зоны методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в пищевых продуктах, кормах и внешней среде Сборник № 28. – К.: Юнівест Медіа. – 2000. - С. 77 – 82.

10. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. Пер с англ. В 2-х Т.- Т. 1. – М.: Мир. – 1999.- 348 с.

11. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. Пер. с англ. В 2-х т. – Т. 1. М.: Мир. – 616 с.

12. Березкин В.Г. К вопросу об определении современной хроматографии // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2003. – Т. 69. № 5. – С. 25 – 28.

13. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Современное состояние хроматографического приборостроения. // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2003. – Т. 69. № 3. – С. 19 – 31

14. Ambrus A., Hargitai E., Karoly G., Fulop A., Langtos J. General method for determination of pesticide-residues in samples of plant-origin, soil, and water. 2. Thin-layer chromatographic determination. // Journal of the association of official analytical chemists. - 1981. – V. 64. – P. 743 – 748.

15. Ratore Hs., Begum. T. Thin-layer chromatographic methods for use in pesticide-residue analysis. // Journal of Chromatography. – 1993. – V. 643. – P. 271 – 290.

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

Maga I.M., Sharga B.M., Haydu V.Yu.

The conditions for Fludioxonil determination by thin layer chromatography were studied. The maximum extraction of fludioxonil was observed in chloroform at pH 6-8. The Toluene/acetic acid (5/1, v/v) were best for the development of the thin layer chromatography plates. The method for Fludioxonil determination into sewage waters was developed in this study.