

П. В. Ставніченко, А. М. Антоненко, О. П. Вавріневич,  
О. В. Стеценко, С. Т. Омельчук, В. Г. Бардов  
ІНСТИТУТ ГІГІЄНИ ТА ЕКОЛОГІЇ НАЦІОНАЛЬНОГО МЕДИЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ  
ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ, КИЇВ

## ОПТИМІЗАЦІЯ АНАЛІТИЧНОГО КОНТРОЛЮ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ ФУНГІЦИДІВ ЦИФЛУФЕНАМІДУ ТА ДИФЕНОКОНАЗОЛУ У ВОДІ

**Вступ.** Щорічно асортимент та обсяг застосування пестицидів поповнюються новими сполуками різних хімічних класів. Відомі способи визначення діючих речовин у воді методом газорідинної хроматографії передбачають визначення тільки по одному фунгіциду, що є досить затратним. Тому залишається актуальною розробка способу, який дозволить одночасно визначити різні речовини в одній пробі. Така методика дасть можливість значно збільшити швидкість одного визначення та зменшити витрати на його проведення. Цей спосіб має не тільки економічне, а й екологічне значення, оскільки може ефективно використовуватись для моніторингових досліджень навколишнього середовища.

**Мета дослідження** – розробити методику аналітичного визначення мікрокількостей цифлуфенаміду і дифеноконазолу при їх сумісній присутності у воді.

**Методи дослідження.** Дослідження включає екстрагування, концентрування та хроматографування підготовлених проб води. Кількісне визначення цифлуфенаміду та дифеноконазолу здійснювали методом газорідинної хроматографії з використанням електронозахватного детектора.

**Результати й обговорення.** Найкращого результату з вилучення діючих речовин із проб води було досягнуто при використанні хлороформу як екстрагенту. Встановлено умови хроматографування, за яких час утримування становив: цифлуфенаміду – 3,19 хв, дифеноконазолу – 12,58 хв. Межі кількісного визначення даною методу склали: для цифлуфенаміду – 0,001 мг/дм<sup>3</sup>, дифеноконазолу – 0,001 мг/дм<sup>3</sup>.

**Висновок.** Розроблено умови одночасного визначення цифлуфенаміду і дифеноконазолу методом газорідинної хроматографії при сумісній присутності в пробі води, що дозволяє значно прискорити аналіз та зменшити витрати на його проведення.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: дифеноконазол; цифлуфенамід; фунгіциди; газорідинна хроматографія; вода.

ВСТУП. При аналізі застосування в Україні й у світі хімічного методу захисту рослин було зроблено висновок, що асортимент пестицидів, препаративні форми і способи їх використання докорінно змінилися порівняно з тими, що були поширені в другій половині минулого сторіччя [1]. Сучасні препарати краще збалансовані за багатьма показниками, часто в їх складі міститься 2–3 діючих речовини, що розширює спрямованість і спрощує дозування та приготування робочих розчинів для їх застосування [1].

Серед фунгіцидів для застосування на плодівих та овочевих культурах рекомендують препарати “Циделі Топ” і “Диналі” на основі діючих речовин дифеноконазолу (125 г/л) та цифлуфенаміду (15 г/л) [2]. Зазначені препарати задо-

вольняють сучасні вимоги, а їх діючі речовини рекомендовані у світі для захисту багатьох плодівих та овочевих культур. З огляду на велику кількість комбінованих препаратів на основі дифеноконазолу [2] й антирезистентну стратегію застосування пестицидів, яка передбачає використання сполук з новим механізмом дії та впровадження комбінованих препаратів на основі двох і більше діючих речовин, можливе активне застосування дифеноконазолу з іншими діючими речовинами в одному регіоні, а тому існує ймовірність їх одночасного надходження в об’єкти довкілля.

Для контролю за дотриманням гігієнічних норм цифлуфенаміду та дифеноконазолу у воді раніше було розроблено аналітичні способи визначення кожної речовини окремо методом газорідинної хроматографії [3, 4]. Відомі способи

© П. В. Ставніченко, А. М. Антоненко, О. П. Вавріневич, О. В. Стеценко, С. Т. Омельчук, В. Г. Бардов, 2017.

визначення діючих речовин у воді цим методом передбачають визначення тільки по одному фунгіциду, що є досить затратним як з позиції часу, так і з позиції коштів. Саме тому актуальною залишається розробка способу, який дозволить одночасно визначити обидві діючі речовини препаратів “Циделі Топ” та “Диналі” в одній пробі. Така методика дасть можливість значно збільшити швидкість одного визначення та зменшити витрати на його проведення.

Мета дослідження – розробити методику аналітичного визначення мікрокількостей цифлуфенаміду і дифеноконазолу при їх сумісній присутності у воді.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Діючі речовини, які досліджували, за своїми хімічними властивостями належать до різних хімічних класів: похідних амід фенілоцтової кислоти (цифлуфенамід) і заміщених триазолів (дифеноконазол).

Структурні формули та фізико-хімічні властивості досліджуваних сполук наведено в таблиці [5, 6].

При розробці аналітичного методу визначення досліджуваних сполук вносили аналітичні стандарти цифлуфенаміду та дифеноконазолу з вмістом діючої речовини 2,0 мкг/мл у 2000 л води.

Вихідний стандартний розчин кожної з досліджуваних речовин містив 100 мкг/мл сполуки в 1 мл гексану. Шляхом змішування та послідовного розведення цих вихідних розчинів ацетонітрилом готували 5 робочих градувальних роз-

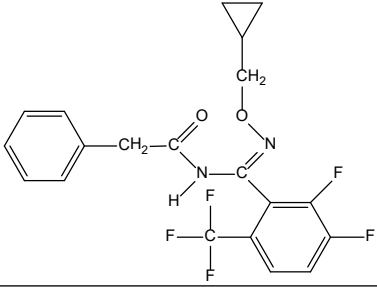
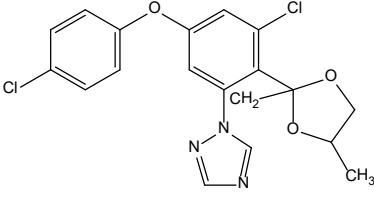
чинів суміші досліджуваних речовин з масовою концентрацією кожної сполуки 1,0; 2,0; 5,0; 8,0 і 10,0 мкг/мл та контрольний розчин суміші з масовою концентрацією кожної сполуки 4,0 мкг/мл.

Дослідження виконано методом газорідної хроматографії на хроматографі “Кристаллюкс-400 М”, оснащеному капілярною колонкою НР-5, з електронозахватним детектором. Спочатку проводили хроматографічний аналіз розчину кожної речовини для подальшої ідентифікації піку конкретної сполуки на хроматограмі суміші. Після вибору оптимальних умов розділення цифлуфенаміду і дифеноконазолу хроматографування кожного градувального розчину суміші проводили 5 разів для побудови графіків залежності висоти хроматографічного піку кожної сполуки від концентрації.

Ідентифікацію досліджуваних сполук в екстрактах проб води проводили за часом утримання кожної з двох речовин у градувальних розчинах суміші, кількісне визначення – за відповідною залежністю площі хроматографічного піку речовини від концентрації в градувальному розчині, яку встановлювали на підставі кореляційного та регресійного аналізу [7].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Пробу води (2000 мл) було розділено на 4 проби по 500 мл. Проби води поміщали в ділительну лійку місткістю 1000 мл, додавали 5 г NaCl та проводили екстракцію цифлуфенаміду і дифеноконазолу трічі різними екстрагентами (хлороформ, ксилол, метанол). Найкращого результату з вилу-

Таблиця – Основні фізико-хімічні властивості цифлуфенаміду та дифеноконазолу

Назва показника	Значення показника для досліджуваних речовин	
	цифлуфенамід	дифеноконазол
Структурна формула		
Емпірична формула	$C_{20}H_{17}F_5N_2O_2$	$C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$
Реєстраційний номер CAS	180409-60-3	119446-68-3
Молекулярна маса, г/моль	412,36	406,3
Температура плавлення, °С	61,5–62,5	72–75
Тиск пари (20 °С), Па	$3,54 \times 10^{-5}$	$3,3 \times 10^{-8}$ (25 °С)
Розчинність у воді (20 °С), мг/дм <sup>3</sup>	0,52	20
Розчинність в органічних розчинниках (25 °С), г/дм <sup>3</sup>	н-гептан – 15,7, н-гексан – 18,6, метанол – 198, ксилол – 217	етанол – 330, ацетон – 610, толуол – 500, н-гексан – 3,4
Коефіцієнт розподілу н-октанол/вода (20 °С)	$\log P_{ов} = 4,7$	$\log P = 4,2$

чення досліджуваних діючих речовин із проб води було досягнуто при використанні хлороформу як екстрагенту (тричі по 30 мл). Лійку струшували впродовж 1–2 хв, і після розділення шарів збирали хлороформний шар у конічну колбу місткістю 250 мл. Об'єднаний екстракт сушили безводним сульфатом натрію (20–25 г) шляхом настоювання в конічній колбі місткістю 250 мл протягом 30 хв.

У подальшому екстракт переносили в грушоподібну колбу для відгону розчинників місткістю 250 мл і концентрували на ротаційному випарнику при температурі водяної бані, не вищій 45°C, до об'єму 0,2–0,3 мл. До сухого залишку випаровували розчинник на повітрі. Сухий залишок розчиняли в 1 мл гексану та переносили в градувальну пробірку місткістю 10 мл.

Наступним етапом наших досліджень було встановлення оптимальних умов хроматографування для визначення вмісту цифлуфенаміду і дифеноконазолу методом газової хроматографії.

Встановлено оптимальні умови розділення та визначення цифлуфенаміду і дифеноконазолу: хроматографічна капілярна колонка HP-5 (довжина – 30 м, внутрішній діаметр – 0,32 мм); температура термостата колонки – (260±2) °C; температура випарника – (280±2) °C; температу-

ра підігріву детектора – (300±2) °C; об'ємна витрата газу-носія (азоту) (газ-1) – (30±0,1) мл/хв; об'ємна витрата газу-носія (азоту) (газ-2) – (10±0,1) мл/хв; об'ємна витрата газу-носія (азоту) (газ-3) – (20±0,1) мл/хв; тиск – 0,8 атм. Режим "Спліт": об'ємна витрата газу-носія (азоту) (газ-1) – (30±0,1) мл/хв, газу-носія (азоту) (газ-2) – (10±0,1) мл/хв; затримка включення – 5 с.

Ідентифікацію піків діючих речовин здійснювали за зовнішнім стандартом. В установлених умовах хроматографування час утримування становив: цифлуфенаміду – 3,19 хв, дифеноконазолу – 12,58 хв.

Хроматограми екстрактів проб води з внесенням по 0,001 мг/дм<sup>3</sup> цифлуфенаміду і дифеноконазолу наведено на рисунку.

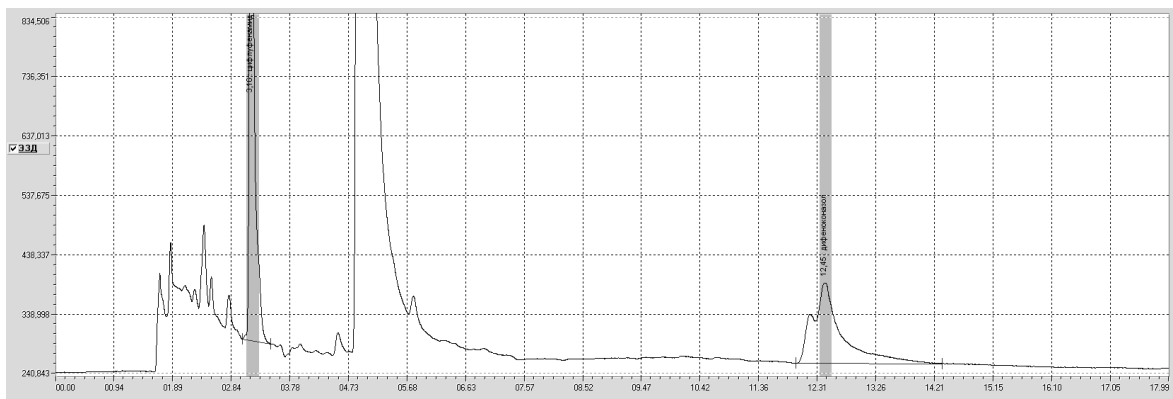
Для обчислення масової концентрації (ρ, мг/см<sup>3</sup>) використовували формулу:

$$X = \frac{C \times H_2 \times V_2 \times V_3 \times 100}{H_1 \times V_1 \times P \times R},$$

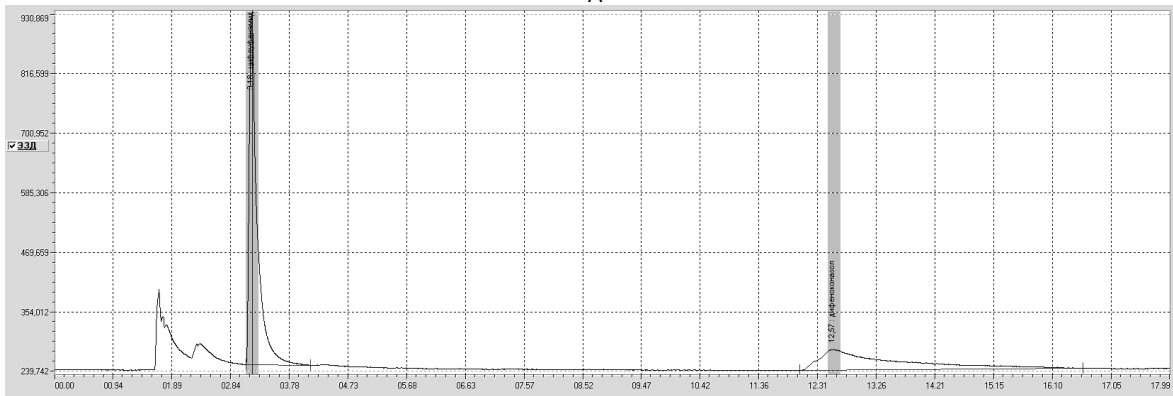
де X – вміст цифлуфенаміду (дифеноконазолу), мг/дм<sup>3</sup>;

C – концентрація стандартного розчину цифлуфенаміду (дифеноконазолу), мкг/мл;

H<sub>1</sub> – висота хроматографічного піку стандарту цифлуфенаміду (дифеноконазолу), мм;



А



Б

Рис. Хроматограми екстрактів проб води з внесенням по 0,001 мг/дм<sup>3</sup> цифлуфенаміду та дифеноконазолу: А – проба води з вмістом цифлуфенаміду та дифеноконазолу 5+10 мкг/мл; Б – суміш стандартного розчину цифлуфенаміду та дифеноконазолу 5+10 мкг/мл.

$H_2$  – висота хроматографічного піку цифлуфенаміду (дифеноконазолу) в пробі, мм;

$V_1$  – аліквота кінцевого розчину проби, введена в хроматограф, мкл;

$V_2$  – загальний об'єм упареного екстракту проби, мл;

$V_3$  – об'єм стандартного розчину цифлуфенаміду (дифеноконазолу), введений у хроматограф, мл;

$P$  – об'єм проби, мл;

$R$  – середнє значення визначення, знайдене напередодні, %.

Визначення  $R$  проводили попередньо шляхом внесення відомих кількостей цифлуфенаміду та дифеноконазолу в контрольні зразки води відповідно до даної методики.

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено умови одночасного визначення цифлуфенаміду і дифеноконазолу методом високоефективної рідинної хроматографії при сумісній присутності в пробі води, що дозволяє значно прискорити аналіз та зменшити витрати на його проведення.

2. Межі кількісного визначення розробленого методу для цифлуфенаміду та дифеноконазолу 0,001 мг/дм<sup>3</sup> дозволяють контролювати встановлені для цих речовин гігієнічні нормативи у воді.

3. Упровадження розробленого методу в практику роботи Міністерства екології та природних ресурсів України сприятиме вдосконаленню моніторингу пестицидів у довкіллі та проведенню заходів з мінімізації їх шкідливої дії на здоров'я населення.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Трибель С. О. Сучасний стан хімічного методу захисту рослин / С. О. Трибель, О. О. Стригун, О. М. Гаманова // Карантин і захист рослин. – 2014. – № 1 (210). – С. 1–4.

2. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні (Офіційне видання) / [упоряд. В. У. Ящук, В. М. Ващенко, Р. М. Кривошия та ін.]. – К. : Юнівест Медіа, 2016. – 1086 с.

3. Тимчасові методичні вказівки з визначення цифлуфенаміду у воді методом газорідинної хроматографії. № 1294-2014.

4. Методические указания по газохроматографическому определению дифеноконазола (СКОРА) в растительном материале, почве, воде. № 6147-91 // Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в пищевых продуктах, кормах и

внешней среде : [сб. 22, часть 1]. – К. : УКРГОСХИМКОМИССИЯ, 1995. – С. 59–64.

5. PPDB: Pesticide Properties Data Base [Електронний ресурс]: Cyflufenamid – Електронні дані. – Режим доступу: <http://rupest.ru/ppdb/cyflufenamid.html>. – Назва з екрану.

6. PPDB: Pesticide Properties Data Base [Електронний ресурс]: Difenconazole. – Електронні дані. – Режим доступу: <http://rupest.ru/ppdb/difenconazole.html>. – Назва з екрану.

7. Международный стандарт ISO 0 8466-1:1990 (E). Качество воды – Калибровка и оценка аналитических методов определения рабочих характеристик. Часть 1 : Статистическая обработка линейной калибровочной функции. – 10 с.

#### REFERENCES

1. Trybel, S.O. Stryhun, O.O., & Hamanova, O.M. (2014). Suchasnyi stan khimichnoho metodu zakhystu roslyn [The current state of the chemical method of plant protection]. *Karantyn i zakhyst roslyn – Quarantine and Plant Protection*, 1 (210), 1-4 [in Ukrainian].

2. Yashchuk, V.U., Vashchenko, V.M., & Kryvshyia R.M. (2014). *Perelik pestytsydiv i ahrokhimikativ, dozvolenykh do vykorystannia v Ukraini (Ofitsiine vydannia) [The list of pesticides and agrochemicals permitted for use in Ukraine (official publication)]*. Kyiv: Yunivest Media [in Ukrainian].

3. *Tymchasovi metodychni vkazivky z vyznachennia tsyflufenamidu u vodi metodom hazoridynnoi khroma-*

*tohratii [Temporary guidance on the determination of dimethylfenamide in water by gas-liquid chromatography]*. No. 1294-2014 [in Ukrainian].

4. (1995). *Metodycheskie ukazaniya po hazokhromatograficheskomu opredeleniyu dyfenokonazola (SKORA) v rastitelnom materiale, pochve, vode [Guidances on gas chromatographic determination of diphenconazole (SCAR) in vegetative material, soil, water]*. (1995). *Metodycheskie ukazaniya po opredeleniyu mikrokolichestv pestitsydov v pishchevykh produktakh, kormakh i vneshney srede – Methodical guidelines for the determination of pesticide microcosms in food products, feeds and the environment*]. Kyiv: UKRGOSKHIMKOMISSIYA [in Russian].

5. Pesticide Properties Data Base. Cyflufenamid. Retrieved from: <http://rupest.ru/ppdb/cyflufenamid.html>. (Assessed 12 of August 2017).

6. Pesticide Properties Data Base. Difenoconazole. Retrieved from: <http://rupest.ru/ppdb/difenoconazole.html>. (Assessed 12 of August 2017).

7. International standart ISO 0 8466-1:1990 (E). Kachestvo vody – Kalibrovka I otsenka analiticheskikh metodov opredeleniya rabochikh kharakteristik. Chast 1: Statisticheskaya obrabotka lineynoy kalibrovochnoy funktsii [Water quality – Calibration and evaluation of analytical methods for determining performance. Part 1: Statistical processing of linear gauge function]. [in Russian].

П. В. Ставниченко, А. Н. Антоненко, Е. П. Вавриневич,  
А. В. Стеценко, С. Т. Омельчук, В. Г. Бардов  
ИНСТИТУТ ГИГИЕНЫ И ЭКОЛОГИИ НАЦИОНАЛЬНОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА  
ИМЕНИ А. А. БОГОМОЛЬЦА, КИЕВ

## ОПТИМИЗАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ФУНГИЦИДОВ ЦИФЛУФЕНАМИДА И ДИФЕНОКОНАЗОЛА В ВОДЕ

### Резюме

**Вступление.** Ежегодно ассортимент и объем применения пестицидов пополняются новыми соединениями различных химических классов. Известные способы определения действующих веществ в воде методом газожидкостной хроматографии предусматривают определение только по одному фунгициду, что является достаточно затратным. Поэтому остается актуальной разработка способа, который позволит одновременно определить различные вещества в одной пробе. Такая методика даст возможность значительно увеличить скорость одного определения и уменьшить расходы на его проведение. Этот способ имеет не только экономическое, но и экологическое значение, поскольку может эффективно использоваться для мониторинговых исследований окружающей среды.

**Цель исследования** – разработать методику аналитического определения микроколичеств цифлуфенамида и дифеноконазола при их совместном присутствии в воде.

**Методы исследования.** Исследование включает экстрагирование, концентрирование и хроматографирование подготовленных проб воды. Количественное определение цифлуфенамида и дифеноконазола осуществляли методом газожидкостной хроматографии с использованием электронозахватного детектора.

**Результаты и обсуждение.** Наилучшего результата по извлечению действующих веществ из проб воды было достигнуто при использовании хлороформа в качестве экстрагента. Установлены условия хроматографирования, при которых время удерживания составляло: цифлуфенамида – 3,19 мин, дифеноконазола – 12,58 мин. Пределы количественного определения данного метода составили: для цифлуфенамида – 0,001 мг/дм<sup>3</sup>, дифеноконазола – 0,001 мг/дм<sup>3</sup>.

**Вывод.** Разработаны условия одновременного определения цифлуфенамида и дифеноконазола методом газожидкостной хроматографии при совместном присутствии в пробе воды, что позволяет значительно ускорить анализ и уменьшить расходы на его проведение.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: дифеноконазол; цифлуфенамид; фунгициды; газожидкостная хроматография; вода.

## METHOD OF SIMULTANEOUS DETERMINATION OF CYCLUFENAMIDE AND DIFENOCONAZOLE IN WATER

### Summary

**Introduction.** Annually, the assortment and application rates of pesticides are supplemented with new compounds of various chemical classes. Methods for the determination of active substances in water by the method of gas-liquid chromatography are known to provide for the determination of only one fungicide, which is quite costly. Therefore, it remains an actual goal to develop a method that will simultaneously identify different substances in one sample. Such a technique allows significantly increasing the speed of one definition and reducing the cost of conducting it. Such a method has not only economic but also ecological significance, since it can be effectively used for monitoring environmental studies.

**The aim of the study** – to develop a technique for the analytical determination of cyflufenamide and difenoconazole microquantities in water simultaneously.

**Research Methods.** Research includes extraction, concentration and chromatography of prepared water samples. The quantitative determination of cyflufenamide and difenoconazole was carried out by gas-liquid chromatography using an electron-capture detector.

**Results and Discussion.** The best result of active substances extraction from water samples was achieved using chloroform as an extractant. Chromatography conditions were established under which the retention time is: for cyflufenamide – 3.19 minutes; difenoconazole – 12.58 minutes. Limit of the quantification of this method for cyflufenamide is 0.001 mg/dm<sup>3</sup>, difenoconazole – 0.001 mg/dm<sup>3</sup>.

**Conclusion.** The conditions for simultaneous determination of cyflufenamide and difenoconazole by the method of gas-liquid chromatography are developed with their simultaneous presence in the water sample, which allows significantly speeding up the analysis and reducing the cost of conducting it.

KEY WORDS: difenoconazole; cyflufenamide; fungicides; gas-liquid chromatography; water.

Отримано 21.09.17

Адреса для листування: А. М. Антоненко, Інститут гігієни та екології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, просп. Перемоги, 34, Київ, 03057, Україна, e-mail: antonenko198@ukr.net.