



УКРАЇНА

(19) UA (11) 58529 (13) U
(51) МПК
G01N 33/18 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СУЛЬФОНІЛСЕЧОВИННИХ ГЕРБІЦИДІВ У ВОДІ

1

2

(21) u201013998

(22) 24.11.2010

(24) 11.04.2011

(46) 11.04.2011, Бюл. № 7, 2011 р.

(72) БАРДОВ ВАСИЛЬ ГАВРИЛОВИЧ, АНТОНЕНКО АННА МИКОЛАЇВНА, КОРШУН МАРІЯ МИХАЙЛІВНА, ГІРЕНКО ДЕЛЬБАР БЕКДЖАНІВНА, КОРШУН ОЛЬГА МИХАЙЛІВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. О.О. БОГОМОЛЦЯ

(57) Спосіб визначення сульфонілсечовинних гербіцидів у воді, що включає підготовку проб води до

екстракції, проведення екстракції, концентрування та хроматографування, який **відрізняється** тим, що змінюють умови хроматографування для чіткого розходження піків речовин (форамсульфурону, тіенкарбазон-метилу та ципросульфаміду), що знаходяться в пробі води, після отримання хроматограм вивчають піки кожної речовини, ідентифікують їх за часом утримування і визначають їх кількість за градувальною залежністю висоти піка кожної сполуки від концентрації в градувальному розчині суміші сполук.

Корисна модель, що заявляється, відноситься до медицини, а саме до виробничої токсикології і може бути використана для одночасного визначення залишкових кількостей сульфонілсечовинних гербіцидів у одній пробі води.

Сульфонілсечовинні препарати є одним з найбільш перспективних класів гербіцидів, який останнім часом активно впроваджується в сільськогосподарську практику. Абсолютна кількість гербіцидів на основі сульфонілсечовин в 2010 році збільшилась вдвічі в порівнянні з 2003 роком [1, 2], що пов'язано з їх високою ефективністю при досить низьких, в порівнянні з іншими гербіцидами, нормах витрат. Крім того, захисний ефект від використання цих препаратів зберігається протягом кількох років [3].

Після внесення в 2003 році препарату Майс-Тер до переліку пестицидів, дозволених до використання в Україні [1], значно зросли обсяги його застосування на посівах кукурудзи. В 2010 році проходить державні випробування Майс-Тер Пауер OD – удосконалений варіант попереднього препарату, який серед сульфонілсечовинних препаратів є одним з найбільш перспективних на сьогоднішній день. Майс-Тер Пауер OD – комбінований гербіцид

на основі діючих речовин (д.р.) тіенкарбазон-метилу, йодсульфурон-метил натрію, форамсульфурону та ципросульфамід (табл.1).

З еколого-гігієнічних позицій потенційна небезпека застосування сульфонілсечовинних гербіцидів тісно пов'язана з особливостями їх поведінки в навколишньому середовищі, зокрема із стійкістю у воді. Відомо, що тіенкарбазон-метил та форамсульфурон за стабільністю у воді відносяться до I класу небезпечності – високостійкі. Саме тому дуже важливо контролювати вміст сульфонілсечовинних гербіцидів у воді.

Раніше для контролю за дотриманням гігієнічних нормативів при використанні препаратів на основі тіенкарбазон-метилу та форамсульфурону були розроблені аналітичні методи визначення кожної речовини окремо методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [4, 5]. Але на сьогоднішній день в сільськогосподарській практиці все більше використовують комбіновані препарати, що в своєму складі містять декілька діючих речовин. Таким препаратом і є Майс-Тер Пауер OD. Тому актуальною стає розробка методу, який дозволить би одночасно визначати декілька речовин з класу сульфонілсечовин в одній пробі. Така

(19) UA (11) 58529 (13) U

методика дозволила б значно прискорити швидкість одного визначення та зменшити витрати на його проведення. Такий метод має не лише економічне, а й біоетичне значення.

Відомий спосіб визначення тіенкарбазон-метилу у воді шляхом ВЕРХ [4]. Однак, даний спосіб має наступні недоліки: не передбачає визначення суміші сульфонілсечовинних гербіцидів, вимагає більше часу і затрат реактивів.

Відомий метод визначення форамсульфурону у воді методом ВЕРХ [5], обраний як прототип. Визначення проводять шляхом підготовки проб води до екстракції, проведення екстракції та концентрування. Наявність вказаних речовин визначають за їх залишковими кількостями у воді. Однак, такий підхід не дозволяє одночасно визначити кожну діючу речовину сульфонілсечовинної групи з суміші в одній пробі.

Задачею корисної моделі є одночасне визначення сульфонілсечовинних гербіцидів (тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону та ципросульфаміду) в одній пробі води.

Технічний результат, отриманий після вирішення задачі, полягає в прискоренні визначення сульфонілсечовинних гербіцидів (тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону та ципросульфаміду) і зменшенні витрат на його проведення.

Поставлена задача досягається тим, що у відомому способі визначення форамсульфурону у воді, який включає підготовку проб до екстракції, проведення екстракції та концентрації, хроматографування, згідно корисної моделі, змінюють умови хроматографування для чіткого розходження піків речовин (тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону та ципросульфаміду), що знаходяться в суміші проб, після отримання хроматограм вивчають піки кожної речовини, ідентифікують їх за часом утримування, визначають їх кількість за градувальною залежністю висоти піка кожної сполуки від концентрації в градувальному розчині суміші сполук.

Спосіб реалізують наступним чином:

Спосіб ґрунтується на вилученні похідних сульфонілсечовини (тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону, ципросульфаміду) з проб води, підкисленої 1 М водним розчином ортофосфорної кислоти, етилацетатом при підігріві, концентруванні екстракту та подальшому визначенні тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону та ципросульфаміду методом обернено-фазової ВЕРХ з ультрафіолетовим (УФ) детектором.

Підготовка проб:

500 мл води поміщають в конічну колбу місткістю 1000 мл. Додають близько 5 мл 1 М водного розчину ортофосфорної кислоти, доводячи рН до 4 (контроль рН проводять за індикаторним папером). Приливають 100 мл етилацетату та екстрагують на апараті для струшування протягом 30 хвилин при температурі 60°C. Розчин охолоджують і переносять в ділільну лійку місткістю 1000 мл, конічну колбу промивають тричі по 10 мл етилацетату. Струшують лійку впродовж 1-2 хвилин і після розділення шарів збирають верхній шар етилацетату в конічну колбу місткістю 250 мл. Екстракт сушать безводним сульфатом натрію (близь-

ко 15 г) шляхом настоювання у конічній колбі місткістю 250 мл протягом 30 хвилин. Екстракт переносять у грушоподібну колбу для відгону розчинників місткістю 250 мл і концентрують на ротаційному випарнику при температурі водяної бані не вище 60°C до об'єму 0,2-0,3 мл. До сухого залишку розчинник випаровують струменем сухого повітря.

Сухий залишок кількісно переносять в градуйовану пробірку місткістю 5 мл за допомогою рухомої фази (суміш ацетонітрил-0,1% водний розчин ортофосфорної кислоти (35+65, об.+об.)). Кінцевий об'єм екстракту проби 2 мл.

Аналогічно готують паралельну пробу.

Підготовка та кондиціювання колонки для рідинної хроматографії:

Колонку хроматографічну сталеву (250 мм × 4,6 мм), заповнену Нуклеосилом C₁₈ (100-5), стабілізують при температурі 30°C при об'ємній витраті рухомої фази 1 мл/хв. протягом 30 хвилин. Вмикають детектор і чекають стабільності базової лінії 10-15 хвилин.

Умови роботи хроматографа:

- рідинний хроматограм «Шимадзу» або подібний з УФ-детектором;

- колонка хроматографічна сталева (250 мм × 4,6 мм), заповнена Нуклеосилом C₁₈ (100-5);

- рухома фаза – суміш ацетонітрил-0,1% водний розчин ортофосфорної кислоти (35+65, об.+об.);

- об'ємна витрата рухомої фази – 1 мл/хв.;

- температура термостата колонки – 30°C;

- довжина хвилі ультрафіолетового детектора – 230 нм;

- чутливість – 0,02 aufs (одиниць абсорбції на шкалу);

- швидкість руху діаграмної стрічки самописа – 4 мм/хв.;

- об'єм петлі інжектора рідинного хроматографа – 20 мкл.

Час утримування за даних умов, хв.:

форамсульфурону – 7,1±0,1;

тіенкарбазон-метилу – 10,8±0,1;

ципросульфаміду – 12,0±0,1.

Етапи способу одночасного визначення сульфонілсечовинних гербіцидів в одній пробі води узагальнені в табл. 2.

Кількісне визначення тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону та ципросульфаміду здійснюють методом абсолютного калібрування. Для цього необхідно для кожної речовини окремо побудувати градувальну залежність висоти її хроматографічного піка від масової концентрації в градувальному розчині суміші цих речовин.

Побудова градувальних залежностей для тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону та ципросульфаміду:

Готують 5 градувальних розчинів суміші тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону та ципросульфаміду з масовими концентраціями кожної сполуки 1; 2; 4; 5 та 6 мкг/мл. Ці градувальні розчини хроматографують тричі в умовах, наведених в табл.2.

Ідентифікацію піків тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону та ципросульфаміду в розчинах

проводять відповідно до часу утримування кожної з трьох сполук (табл.2).

Вимірюють висоту піка кожної речовини від нульової (базової) лінії у напрямку, перпендикулярному осі часу, за допомогою лінійки з похибкою 0,5 мм. Обчислюють середнє значення висоти піків кожної сполуки з 3 паралельних вимірювань. Отримані результати обробляють за методом найменших квадратів.

Градувальна залежність описується рівнянням:

$$h_{np} = a + b \cdot \rho_{np} \cdot d_e$$

h_{np} - висота піку тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону чи ципросульфаміду, мм;

ρ_{np} - масова концентрація тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону чи ципросульфаміду в градувальному розчині, мкг/мл;

a - масштабний коефіцієнт;

b - коефіцієнт регресії.

Градувальну залежність вважають задовільною, якщо значення коефіцієнта кореляції знаходиться в межах від 0,8 до 1,0.

Виконання вимірювань:

Проби хроматографують тричі за умов, наведених в таблиці 2.

Використовуючи відповідну градувальну залежність, обчислюють масову концентрацію (ρ_n), мкг/дм³, тіенкарбазон-метилу, форамсульфурону та ципросульфаміду для кожної з паралельних проб за формулою:

$$\rho_n = \frac{h_{np} - a}{b} \cdot \frac{V_{np}}{V}, \text{ де}$$

n - номер паралельної проби ($n = 1, 2$);

h_{np} - висота піку тіенкарбазон-метилу чи форамсульфурону, чи ципросульфаміду (середнє з трьох спостережень) в аліквоті проби, що введена в хроматограф, мм;

a - масштабний коефіцієнт;

b - коефіцієнт регресії у рівнянні градувальної залежності;

V_{np} - кінцевий об'єм екстракту проби, мл;

V - об'єм проби води, мл.

Результат обчислень заокруглюють до другої значущої цифри.

Обробка результатів вимірювання:

За результат вимірювання масової концентрації тіенкарбазон-метилу або форамсульфурону, або ципросульфаміду в пробі (ρ), мкг/дм³, приймають середнє значення двох паралельних визначень масової концентрації тіенкарбазон-метилу або форамсульфурону, або ципросульфаміду.

Джерела інформації:

1. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. – Офіційне видання. – Київ: Юнівест Медіа, 2003. – 348 с.

2. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. – Офіційне видання. – Київ: Юнівест Медіа, 2010. – 543 с.

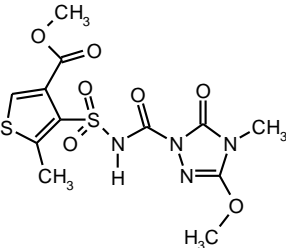
3. Карпенко В.В. Гігієнічна оцінка асортименту та обсягів застосування гербіцидів у сільському господарстві України / В.В. Карпенко, М.М. Коршун // Гігієна населених місць. – Київ, 2007. - №49. – С. 133-138.

4. Методичні вказівки з визначення тіенкарбазон-метилу в воді методом високоефективної рідинної хроматографії: Методичні вказівки №933-2009 // Погоджено МОЗ 3.04.2009, Постанова №10, затверджено Міністерством охорони навколишнього природного середовища 5.05.2009, Наказ №204.

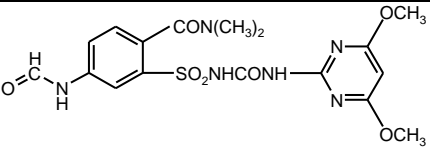
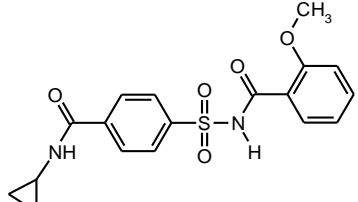
5. Методичні вказівки з визначення форамсульфурону в воді методом високоефективної рідинної хроматографії: Методичні вказівки №431-2003 // Методичні вказівки з визначення мікро кількостей пестицидів в продуктах харчування, кормах та навколишньому середовищі. – Київ, 2004 рік. – Збірка №44. – С. 254-256.

Таблиця 1

Загальні відомості про досліджувані сульфонілсечовинні гербіциди

| Назва | Хімічна назва за IUPAC | Хімічна формула | Емпірична формула | Молекулярна маса |
|--------------------|--|--|--|------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Тіенкарбазон-метил | 4-[(4,5-дигідро-3-метокси-4-метил-5-оксо-1H-1,2,4-триазол-1-іл) карбоніл-сульфамойл]-5-метилтіофен-3-карбонова кислота |  | C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₇ S ₂ | 390,4 |

Продовження таблиці 1

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---------------------|---|--|-----------------------|-------|
| Форамсуль- фурон | 1-(4,6-диметоксипіримідин-2-іл)-3-(2-диметилкарбамоїл-5-формаїдофеніл-сульфоніл) сечовина |  | $C_{17}H_{20}N_6O_7S$ | 452,4 |
| Ципросуль- фамід | N-циклопропіл-4[(2-метоксибензол)сульфамоїл] бензамід |  | $C_{18}H_{18}N_2O_5S$ | 374,4 |

Таблиця 2

Спосіб визначення сульфонілсечовинних гербіцидів у воді

| Етап визначення | Дії на даному етапі |
|---------------------------|--|
| Підготовка до екстракції | 500 мл води підкислюють 1 М водним розчином ортофосфорної кислоти до pH 4 (контроль pH проводять за індикаторним папером). |
| Екстракція | Приливають 100 мл етилацетату та екстрагують на апараті для струшування протягом 30 хвилин при температурі 60°C. Розчин охолоджують і переносять в діляльну ліжку місткістю 1000 мл, конічну колбу промивають тричі по 10 мл етилацетату. Струшують ліжку впродовж 1-2 хвилин і після розділення шарів збирають верхній шар етилацетату в конічну колбу місткістю 250 мл. |
| Підсушування | Екстракт сушать безводним сульфатом натрію (близько 15 г) шляхом настоювання у конічній колбі місткістю 250 мл протягом 30 хвилин. |
| Концентрування | Екстракт переносять у грушоподібну колбу для відгону розчинників місткістю 250 мл і концентрують на ротаційному випарнику при температурі водяної бані не вище 60°C до об'єму 0,2-0,3 мл. До сухого залишку розчинник випаровують струменем сухого повітря. |
| Хроматографування (умови) | <ul style="list-style-type: none"> - рідинний хроматограм «Шимадзу» або подібний з УФ-детектором; - колонка хроматографічна сталева (250 мм × 4,6 мм), заповнена Нуклеосилом C₁₈ (100-5); - рухома фаза - суміш ацетонітрил-0,1% водний розчин ортофосфорної кислоти (35+65, об.+об.); - об'ємна витрата рухомої фази - 1 мл/хв.; - температура термостата колонки - 30°C; - довжина хвилі ультрафіолетового детектора - 230 нм; - чутливість - 0,02 афс (одиниць абсорбції на шкалу); - швидкість руху діаграмної стрічки самописа - 4 мм/хв.; - об'єм петлі інжектора рідинного хроматографа - 20 мкл. <p>Час утримування за даних умов, хв.:</p> <ul style="list-style-type: none"> форамсульфурону - 7,1±0,1; тіенкарбазон-метилу - 10,8±0,1; ципросульфаміду - 12,0±0,1. |