

ОСНОВНІ ПУБЛІКАЦІЇ

УДК 543 848 062

Я. В. МАКАРЧУК, В. Ф. ДЕМЧЕНКО

СЕЛЕКТИВНОЕ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИПРОНИЛА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Розроблено умови газо-хроматографічного з детектором поглинання електронів, розподілу і кількісного визначення фіпроніла і його метаболітів, що були використані у методі контролю якості харчових продуктів та навколишнього середовища.

Conditions of GC ECD method has been elaborated for separation and quantitative determination of fipronil and its metabolites. This method is applied for control of quality of agricultural production and environment.

Фипронил-(±)-5-амино-1-[2,6-дихлор-4-(трифторметил)фенил]-4-[(трифторметил)сульфинил]-1Н-пиразол-3-карбонитрил – инсектицид избирательного действия нового поколения, действующее вещество пестицидных препаратов Регент-25, Регент-80, Космос-500, Космос-250 и др., применяемых на картофеле, сахарной свекле, подсолнечнике. Фипронил обладает высокой биологической активностью.

ДСД (допустимая суточная доза) для человека – 0,00025 мг/кг массы тела /сутки, ОБУВ (ориентировочно безопасный уровень воздействия) в воздухе рабочей зоны – 0,01 мг/м³, в атмосферном воздухе – 0,0004 мг/м³; ПДК (предельно допустимая концентрация) в почве – 0,05 мг/кг, в воде – 0,001 мг/дм³; МДУ (максимально допустимый уровень) в картофеле – 0,001 мг/кг [1].

В результате фотоллиза и метаболизма в растениях, организме теплокровных и объектах окружающей среды образуются метаболиты и соединения, некоторые из которых более токсичны, чем фипронил. Так, например, продукт фотораспада фипронила – десульфинил фипронил (МВ 46513) в два раза более токсичен и на порядок более нейротоксичен, чем исходное соединение [2, 3]. Из приведенных данных следует, что для контроля содержания фипронила в продуктах питания и объектах окружающей среды требуются высокочувствительные и селективные методы определения.

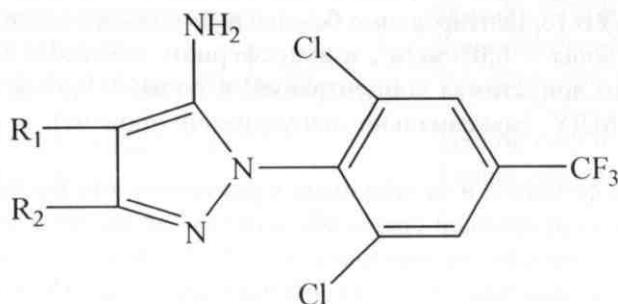
Молекулярные структуры фипронила и его метаболитов содержат 8 атомов галогена (6 атомов фтора и 2 атома хлора), поэтому использование для его анализа метода газо-жидкостной хроматографии с высокочувствительным к галогенам электронозахватным детектором вполне оправдано. Разработаны и утверждены в установленном порядке методики определения остаточных количеств фипронила методом газо-жидкостной хроматографии с детектором по захвату электронов в атмосферном воздухе [4], воде, почве, картофеле [5]. Методы отличаются высокой чувствительностью, но при их разработке вопросы избирательности определения фипронила в присутствии метаболитов не рассматривались. Цель настоящей работы – определить оптимальные условия хроматографирования, позволяющие избирательно определять фипронил в присутствии его метаболитов, отвечающие требованиям контроля качества пищевых продуктов и окружающей среды.

Методика эксперимента

Хроматографирование проводили на хроматографе фирмы "Перкин Элмер" с детектором по захвату электронов с компьютерным программным обеспечением "Турбохром-4". Колонки для хроматографирования: стеклянная (1000 x 4) мм, заполненная фазой 5 % SE-30 на хроматоне; стеклянная (2000 x 4) мм, заполненная фазой: 1,5 % SP 2250 + 1,95 % SP 2401 на хромосорбе; стеклянная (1000 x 4) мм, заполненная фазой 1,5 % SP 2250 + 1,95 % SP 2401 на хромосорбе. Газ-носитель – азот особой чистоты.

Аналитические стандарты фипронила и его метаболитов MB 46513, MB 45950, MB 46136, RPA 200766 предоставлены фирмой "Рон Пуленк". Чистота стандартов – 99,4; 99,2; 99,9 и 99,8 % соответственно.

Общая структурная формула фипронила и его метаболитов



В таблице 1 приведены молекулярные структуры, а также токсикологические характеристики фипронила и его метаболитов.

Таблица 1. Молекулярные структуры, токсикологические характеристики фипронила и его метаболитов

Пор. №	Соединение	R ₁	R ₂	Токсичность (мыши), ЛД ₅₀ , мг/кг [2]	Нейротоксичность (мыши) ЛС ₅₀ , мг/кг [2]
1	МВ 46513	–CF ₃	–CN	2,3	97 ± 4
2	МВ 45950	–S–CF ₃	–CN	–	–
3	Фипронил	O=S–CF ₃ 	–CN	4,1	1010 ± 20
4	МВ 46136	O –S–CF ₃ // O	–CN	–	–
5	RPA 200766	O=S–CF ₃ 	–C–NH ₂ O	–	–

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

На неполярной неподвижной фазе 5 % SE-30 разделение фипронила и метаболитов не достигнуто. На хроматограмме смеси фипронила и метаболитов отмечен один размытый пик. Удовлетворительное разделение исследуемой смеси происходит на смешанной фазе 1,5 % SP 2250 + 1,95 % SP 2401 (фаза аналогична смешанной фазе: 1,5 % OV-17 + 1,95 % QF-1, которая использована в [4]) как на колонке размером (1000 x 4) мм, так и на колонке (2000 x 4) мм. При экспериментальном скрининге оптимальных условий разделения и количественного определения фипронила и метаболитов в пробах сельскохозяйственной продукции и объектов окружающей среды мы выбирали условия, при которых достигалось удовлетворительное разделение близлежащих пиков фипронила и метаболитов МВ 45950 и МВ 46136, а пики коэкстрактивных веществ в экстрактах контрольных и производственных проб не мешали определению. Обобщение и анализ экспериментальных данных позволили выбрать оптимальные условия хроматографирования, приведенные в таблице 2.

В таблице 3 представлены времена удерживания исследуемых соединений при различных условиях хроматографирования.

Нами отмечено, что связь между временем удерживания и молекулярной массой (М. м.) хроматографируемых соединений может быть описана уравнением квадратичной регрессии, а в рядах: МВ 46513, МВ 45950, фипро-

нил; фипронил, MB 46136, RPA 200766 – более точно уравнением линейной регрессии (рис.1).

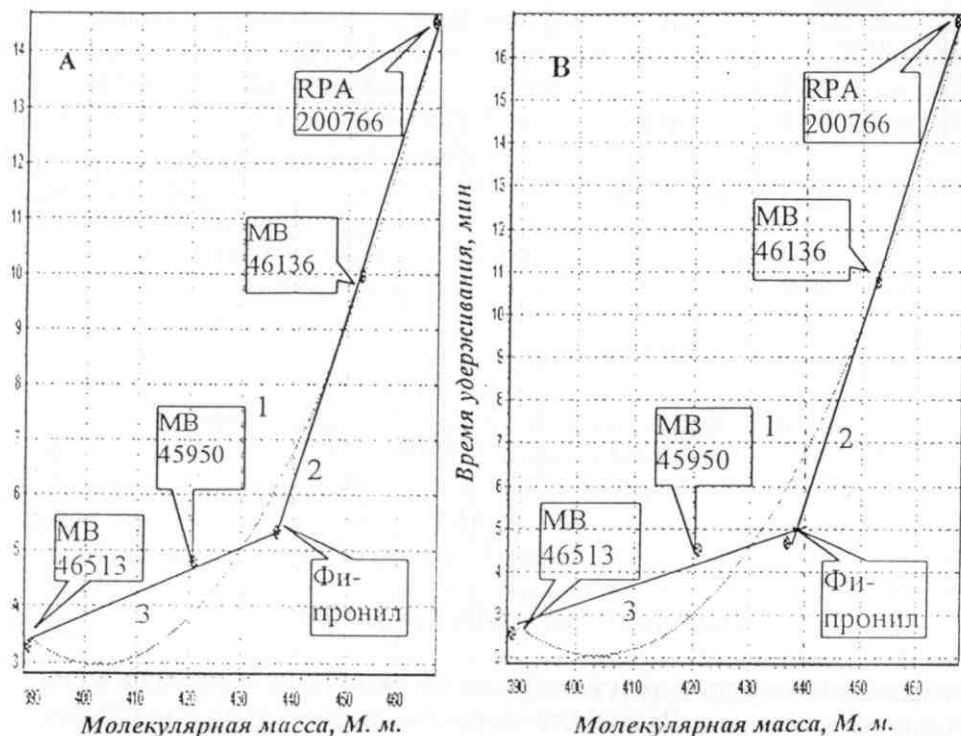


Рис. 1. Зависимость времени удерживания фипронила и его метаболитов от молекулярной массы: 1 – квадратичная регрессия всего ряда; 2 – линейная регрессия (фипронил – RPA 200766); 3 – линейная регрессия (MB 46513 – фипронил).

Условия хроматографирования: А – вариант 2 (таблица 2), В – вариант 3 (таблица 2). Параметры регрессии:

Вариант 2 (рис. 1)

1 – квадратичная регрессия $a + vx + cx^2$; $a = 446$; $v = -2,204$; $c = 0,027$; СКО = 0,91.

2 – линейная регрессия $a + vx$; $a = -129$; $v = 0,31$; СКО = 0,22.

3 – линейная регрессия $a + vx$; $a = -13,4$; $v = 0,043$; СКО = 0,11.

Вариант 3 (рис. 1)

1 – квадратичная регрессия $a + vx + cx^2$; $a = 590$; $v = -2,911$; $c = 0,0036$; СКО = 1,42.

2 – линейная регрессия $a + vx$; $a = -172,3$; $v = 0,405$; СКО = 0,33.

3 – линейная регрессия $a + vx$; $a = -15$; $v = 0,046$; СКО = 0,44.

Установленные закономерности могут быть использованы для идентификации хроматографируемых соединений в спорных случаях.

Таблица 2. Условия хроматографического определения фипронила и его метаболитов

Условия Хроматографирования	Варианты		
	1	2	3
Хроматограф	"Перкин Элмер" с детектором по захвату электронов		
Колонка стеклянная	(2000 x 4) мм	(2000 x 4) мм	(1000 x 4) мм
Неподвижная фаза	1,5 % SP 2250 + 1,95 % SP 2401 на хромосорбе W-HP (80/ 100 меш)		
Температура колонки, °С	250	225	185
Температура испарителя, °С	250	250	250
Температура детектора, °С	350	350	350
Скорость потока газа-носителя (азот о.ч.в.), л/мин	30	60	60

Таблица 3. Времена удерживания и пределы определения фипронила и метаболитов при различных условиях хроматографирования

Условия хроматографирования		МВ 46513	МВ 45950	Фипро-нил	МВ 46136	РРА 200766
Вариант 1	Время удерживания, мин (n = 6, P = 0,95)	2,65±0,07	3,75±0,04	3,98±0,05	6,85±0,02	8,75±0,05
	Предел определения, 10 ³ пг/ М. м.	12,80	3,60	9,00	4,40	6,00
Вариант 2	Время удерживания, мин (n = 4, P = 0,95)	3,28±0,50	4,76±0,05	5,31±0,07	9,96±0,09	14,68 ±0,05
Вариант 3	Время удерживания, мин (n = 3, P = 0,95)	2,56±0,01	4,52±0,03	4,67±0,01	10,74±0,01	16,83 ±0,12

В соответствии с требованиями международного стандарта [6] нами проведена статистическая обработка линейной калибровочной функции. По программе [7], составленной с учетом требований ИСО, рассчитаны рабочие характеристики, построены градуировочные графики (рис. 2) и расчи-

таны пределы количественного определения фипронила и метаболитов при различных вариантах хроматографирования. Пределы определения исследуемых соединений – 2–5 пг, что согласуется с данными [4] и значительно ниже пределов определения других галогенсодержащих пестицидов [8].

На рис. 2 приведена линейная регрессия $a + bx$ градуировочного графика фипронила, которая имеет следующие параметры: $a = 21,07$; $b = 261310$; стандартное отклонение метода – 0,0008204; остаточная дисперсия – 99,83; вариационный коэффициент – 1,092; линейность данных – удовлетворительная ($PG = 0,00268$); однородность дисперсии – удовлетворительная ($PG = 4,574$).

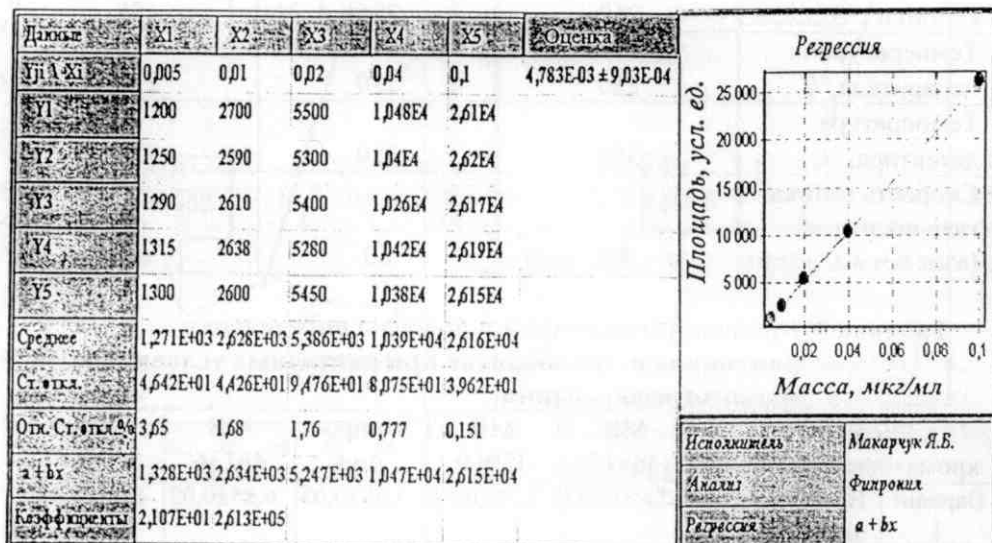


Рис. 2. Градуировочный график фипронила

Связь между чувствительностью определения и молекулярной структурой исследуемых соединений имеет сложный характер и требует специального изучения, но, очевидно, что на эту характеристику оказывают влияние не только природа и число атомов галогена, но и другие функциональные группы. Вклад нитрильной группы, по-видимому, незначителен, что согласуется с данными [8].

Рекомендуемые условия хроматографирования положены в основу методики определения остаточных количеств фипронила и метаболитов в сельскохозяйственных культурах (свекла, картофель, семена и масло подсолнечника) и почве методом газо-жидкостной хроматографии, предназначенного для контроля качества сельскохозяйственной продукции и окружающей среды [9].

Выводы

Разработаны условия газо-хроматографического с детектором по захвату электронов разделения и количественного определения фипронила и метаболитов, которые положены в основу метода контроля качества сельскохозяйственной продукции и окружающей среды.

1. *Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні.* – Київ: Юнівест Маркетинг, 2001. – С. 272.
2. *Hainzel D. Casida.* Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1996, November. – V. 93. – P. 1264–1276.
3. *Norris F. A.* Behaviour of fipronil in Soil Europe and USA // *Abstr. IX Intern. Congress Pest. Chem. JUPAC, London, 1998.* – London, 1998. – 7 с.
4. *Методические указания* по определению фипронила в атмосферном воздухе газо-хроматографическим методом // *Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде.* – Киев, 2000. – Сб. 28. – С. 48–52.
5. *Методические указания* по определению фипронила в воде, почве, картофеле методом газожидкостной хроматографии // *Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде.* – Киев, 2000. – Сб. 28. – С. 44–47.
6. *Международный стандарт ISO 0 8466-1:1990 (E).* Качество воды – Калибровка и оценка аналитических методов и определение рабочих характеристик. Часть 1: Статистическая обработка линейной калибровочной функции. – 10 с.
7. *Макарчук В. Н., Макарчук Т. Л., Макарчук Я. В.* Компьютерная программа "Статистическая обработка линейной калибровочной функции". Место хранения – Институт медицины труда АМН Украины, Институт экогигиены и токсикологии им. Л. И. Медведя, Киев, 1998.
8. *Головкин В. В., Смольченко А. И.* Связь отклика детектора по захвату электронов с молекулярной структурой галогенорганических пестицидов // *Ж. аналит. химии.* – 1981. – Том 36, № 10. – С. 2013.
9. *Методические указания* по определению фипронила и его метаболитов в свекле, почве, семенах и масле подсолнечника методом газожидкостной хроматографии // *Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде.* – Киев, 2000. – С. 53–61.