

**П.М. Кислушко**

*РУП «Институт защиты растений», аг. Прилуки, Минский р-н*

## **МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ХЛОРПРОФАМА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ, ПОЧВЕ И ВОДЕ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ**

*Дата поступления статьи в редакцию: 11.05.2023*

*Рецензент: канд. с.-х. наук Корпанов Р.В.*

**Аннотация.** Разработан метод определения микроколичеств хлорпрофам в растениях свеклы, картофеля, почве и воде. Метод основан на экстракции хлорпрофам из воды и растительного материала хлороформом, из почвы ацетоном, очистке экстрактов на колонке с силикагелем, бромировании сухого остатка с последующим определением методом газожидкостной хроматографии. Предел обнаружения (мг/кг): вода – 0,001; почва, сахарная свекла, картофель – 0,005.

**Ключевые слова.** Хлорпрофам, свекла, картофель, почва, вода, газожидкостная хроматография, остаточные количества, методы анализа.

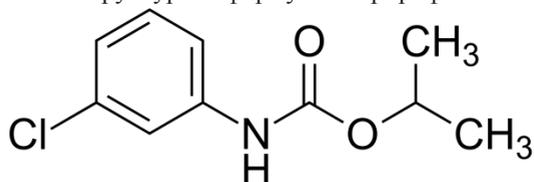
**Введение.** Хлорпрофам является одним из компонентов, входящих в состав гербицидного препарата Метамикс, СЭ (400 г/л метамитрона + 100 г/л хлорпрофам), который проходит государственные регистрационные испытания в качестве гербицида на посевах сахарной свеклы. Хлорпрофам является действующим веществом регулятора роста Нео-Стоп Р, который зарегистрирован в Беларуси как ингибитор прорастания клубней картофеля при хранении [ 2 ].

Существующие методы определения остаточных количеств хлорпрофам в растительной продукции с использованием тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии [6,7] характеризуются низкой чувствительностью (10 мг/кг). Более чувствительный метод определения хлорпрофам в воде и растительном материале (0,01-0,05 мг/кг) основан на использовании газожидкостной хроматографии с применением капиллярных колонок и термоионного детектора [ 5 ].

С целью повышения чувствительности и селективности определения хлорпрофам в различных средах целесообразно применять методы, основанные на использовании газожидкостной хроматографии химических производных, позволяющие в ряде случаев существенно повысить чувствительность определения пестицида [ 3 ].

Физико-химические и санитарно-гигиенические характеристики хлорпрофам приведены ниже [ 4 ]. Название действующего вещества по ИСО: хлорпрофам.

Название д.в. по номенклатуре ИЮПАК: О –изопропил- N-(3-хлорфенил)-карбамат. Структурная формула хлорпрофама:



Эмпирическая формула д.в.:  $C_{10}H_{12}ClNO_2$ .

Молекулярная масса д.в.: 213,7.

Хлорпрофам представляет собой белое кристаллическое вещество. Температура плавления 41,4 °С, температура кипения 112-113 °С.

Растворимость д.в. при 25 °С: в воде - 89 мг/л, хорошо растворим в большинстве органических растворителей.

МДУ, мг/кг: Картофель – 30,0 (для импортируемой продукции); лук, морковь, цикорий – 0,05; картофель для изготовления чипсов – 3,0 [ 1 ].

**Результаты исследований.** Исследования по отработке режимов экстракции и очистки экстрактов от коэкстрактивных веществ проводили с учетом физико-химических свойств хлорпрофама. С целью повышения чувствительности анализа методом газожидкостной хроматографии с использованием детекторов ДЭЗ или ДПР были проведены исследования по модификации молекулы хлорпрофама, в частности, путем бромирования в парах брома. Данная процедура позволила существенно (примерно в 30 раз) снизить уровень минимального детектируемого количества препарата при использовании детекторов ДЭЗ и ДПР (таблица 1).

**Таблица 1 - Влияние бромирования на чувствительность определения хлорпрофама**

Массовая доля гербицида, введенного в хроматограф, нг	Площадь пика, мм <sup>2</sup>	
	Без бромирования	С бромированием
1,0	28,0	898,0
2,0	54,0	1624,0

Для очистки экстрактов проб, содержащих достаточно много коэкстрактивных веществ (свекла, картофель, почва) обрабатывались способы очистки экстрактов с использованием колоночной хроматографии на силикагеле. Предварительно были проведены исследования по хроматографическому поведению хлорпрофама и коэкстрактивных веществ на тонкослойных пластинах с силикагелем Silufol с флуоресцентным индикатором. Подбирая системы органических растворителей, удалось добиться четкого разделения коэкстрактивных веществ и

хлорпрофама, что позволило впоследствии разработать эффективный способ очистки экстрактов на колонке с силикагелем.

### ***Принцип метода определения***

Метод основан на экстракции хлорпрофама из воды и растительного материала хлороформом, из почвы ацетоном, очистке экстрактов из растительного материала и почвы на колонке с силикагелем, бромировании сухого остатка с последующим определением способом газожидкостной хроматографии.

### ***Избирательность и метрологические характеристики метода***

В предлагаемых условиях определения метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в системах защиты свеклы и картофеля. Метрологические характеристики представлены в таблице 2.

**Таблица 2 - Метрологические характеристики метода определения хлорпрофама**

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95 n = 6					
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение (S), %	Относительное стандартное отклонение, (DS), %	Доверительный интервал среднего %
Вода	0,001	0,001-0,01	86,0	4,58	0,05	86,0 ±8,41
Почва дерново-подзолистая	0,005	0,005-0,05	80,5	5,63	0,07	80,5 ±10,35
Почва торфяная	0,005	0,005-0,05	75,7	3,51	0,05	75,7 ±6,45
Сахарная свекла, (корнеплод)	0,005	0,005-0,05	82,8	8,84	0,04	82,8 ±6,25
Картофель, (клубни)	0,005	0,005-0,05	84,0	5,29	0,06	84,0 ±9,72

### ***Средства измерения, вспомогательные устройства, материалы и реактивы***

Хлорпрофам, аналитический стандарт с массовой долей действующего вещества 99,8 %. Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72. Азот газообразный, осч, ГОСТ 9293-74. Ацетон, чда, ГОСТ 2603-7. Хлороформ, ТУ 2631-026-78119972-2010. Бензол, чда, ГОСТ 5955-75. Гексан, хч, ТУ 6-09-4521-77. Бром, чда, ГОСТ 4109-79. Стекловата (стеклоткань). Хроматон N-супер (0,100-0,125 мм). Фильтры бумажные, синяя лента, ТУ 2642-001-68085491-2011. Хроматограф газовый, Цвет-800 с детектором постоянной скорости рекомбинации или HEWLETT PACKARD с детектором электронного захвата. Колонка хроматографическая стеклянная, 1500 x 2 мм, заполненные неподвижными фазами

OV-17 (3 %), OV-101 (3 %), Карбовакс 20 М (15 %) на хроматоне N-супер; колонка составная, 1500 мм ( OV-1 + OV-17, заполненная в равных соотношениях) на хроматоне N-super (0,125-0,160 мм ). Микрошприц емкостью 10 мкл МШ-10Ф по ТУ 64-1-2850 или аналогичный. Весы аналитические типа ВЛР-200, ГОСТ 19401-74. Встряхиватель механический, ТУ 64-1-1081-73 или аналогичный. Размельчитель тканей РТ-1 по ТУ 64-1-1505-79 или аналогичный. Ротационный испаритель тип ИР-1М, ТУ 25-11-917-76 или аналогичный. Воронки для фильтрования стеклянные, ГОСТ 8613-75. Колбы конические с притертыми пробками вместимостью 250 см<sup>3</sup>, ГОСТ 25336-82. Колбы мерные вместимостью 100 и 250 см<sup>3</sup>, ГОСТ 1770-74. Колбы грушевидные вместимостью 100 см<sup>3</sup>, ГОСТ 25336-82. Пробирки вместимостью 25 см<sup>3</sup>, ГОСТ 1770-74. Пробирки градуированные с притертыми пробками вместимостью 5 см<sup>3</sup>, ГОСТ 10515-75. Пипетки мерные вместимостью 0,1 и 1 см<sup>3</sup>, ГОСТ 20292-74Е. Бюксы стеклянные КШ 24/10. Шприц медицинский одноразовый вместимостью 5 см<sup>3</sup>. Эксикатор с притертой крышкой.

### ***Отбор проб***

Отбор проб осуществляется в соответствии с ГОСТ 34668-2020 «Производство пищевая. Методы отбора и подготовка образцов (проб) для определения показателей безопасности». Отобранные пробы хранят в стеклянной таре в холодильнике при температуре +2- +5 °С. Для длительного хранения (30 и более суток) пробы помещают в морозильную камеру при температуре не выше – 15 °С.

### ***Приготовление стандартных растворов***

Основной стандартный раствор хлорпрофама с концентрацией 40 мкг/см<sup>3</sup> готовят растворением 10 мг препарата в ацетоне в мерной колбе на 250 см<sup>3</sup>. Рабочие растворы с концентрациями 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 мкг/см<sup>3</sup> готовят путем разбавления соответственно 1,25; 2,5; 5,0; 10,0 см<sup>3</sup> основного раствора ацетоном в мерной колбе до 100 см<sup>3</sup>. Все растворы хранят в холодильнике при температуре +2 – +5 °С не более одного месяца.

### ***Подготовка и кондиционирование колонок***

Неподвижные фазы (таблица 3), нанесенные на Хроматон N-супер, засыпают в стеклянные колонки длиной 1500 мм и уплотняют под вакуумом. Составную колонку длиной 1500 мм заполняют поровну неподвижными фазами OV-1 (3 %) и OV-17(3 %), нанесенными на Хроматон N-супер. Все колонки (кроме Карбовакс 20М) кондиционируют при температуре 280 °С в течение 16-20 часов. Колонку, заполненную Карбовакс 20М кондиционируют 16-20 часов при температуре 225 °С.

### ***Построение калибровочного графика***

Для построения калибровочного графика в стеклянные бюксы вносят по 1 мл стандартных растворов хлорпрофама с содержанием препарата 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 мкг/см<sup>3</sup>, выдувают растворитель током

холодного воздуха, проводят бромирование согласно пункту «Бромирование хлорпрофама». Сухие остатки после бромирования растворяют в 5 мл ацетона и 2 мкл вводят в испаритель хроматографа, при этом осуществляют не менее 5 измерений по каждой концентрации. Определяют среднее значение площади пика для каждой концентрации и по полученным значениям строят график зависимости площади пика от концентрации хлорпрофама в растворе.

### ***Экстракция хлорпрофама, подготовка к ГЖХ-определению***

#### ***Вода***

К 50 мл воды в делительной воронке добавляют 10 г хлорида натрия, перемешивают до растворения соли. Экстрагируют хлороформом (3 раза по 30 мл, встряхивая каждый раз по 1 мин). Объединенные хлороформные экстракты фильтруют через двойной бумажный фильтр «синяя лента» и упаривают досуха. Сухие остатки количественно переносят ацетоном (4 \* 2 мл) в стеклянные бюксы и упаривают под вентилятором досуха.

#### ***Почва***

10 г почвы встряхивают 1 час с 80 мл ацетона в конических колбах на 250 мл. Фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента». Экстракцию ацетоном повторяют дважды по 40 мл в течение 30 мин. Экстракты фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента», упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 40 °С.

#### ***Сахарная свекла (корнеплод), картофель (клубни)***

Корнеплоды свеклы и клубни картофеля натирают на терке. 10 г пробы встряхивают 1 час с 80 мл хлороформа в конических колбах на 250 мл. Фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента». К твердому остатку добавляют 40 мл хлороформа, встряхивают 30 мин. Фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента». Объединенные экстракты упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 40 °С.

#### ***Очистка экстрактов***

Для очистки экстрактов из почвы и растительного материала готовят хроматографическую колонку. Для этого в медицинский шприц вместимостью 5 см<sup>3</sup> помещают 2 г сорбента Silica – Gel 60 (0,063-0,200 мм), уплотняют сорбент легким постукиванием. Для предотвращения размывания сорбента сверху колонки помещают тампон из стекловаты.

Сухие остатки экстрактов из образцов почвы и растительного материала растворяют в гексане (4 \* 2 мл), переносят на поверхность колонки, заполненной силикагелем. Через колонку пропускают гексан (10 мл), элюат отбрасывают. Затем через колонку пропускают 20 мл бензола, элюат упаривают досуха. Сухие остатки количественно переносят в стеклянные бюксы ацетоном (4 \* 2 мл). Растворитель испаряют досуха под вентилятором и проводят процедуру бромирования.

### **Бромирование хлорпрофама.**

Открытые бюксы с сухими остатками проб помещают в эксикатор, в который помещают стеклянный бюкс с внесенными в него 0,2 мл жидкого брома. Эксикатор закрывают крышкой, помещают в темное место и выдерживают в течение 10-12 часов (можно оставлять для бромирования на ночь).

Примечание. Бромирование образцов проб и стандартных образцов с известным содержанием хлорпрофама проводят одновременно.

**Внимание! Все работы с бромом необходимо проводить в вытяжном шкафу.**

После бромирования бюксы с пробами и стандартными образцами продувают током холодного воздуха в течение 10-20 мин, растворяют содержимое в 5 мл ацетона и вводят в испаритель хроматографа 2 мкл раствора.

### **Условия хроматографирования**

Режимы хроматографического определения хлорпрофама приведены в таблице 3.

**Таблица 3 – Условия ГЖХ-хроматографического определения хлорпрофама**

Хроматограф, тип колонки	Режимы ГЖХ-анализа			Время удерживания, мин
	Температура, °С			
	колонка	испаритель	детектор	
«Цвет-800», составная, 1,5 м (OV-1 + OV-17)	180	240	260	2,7
HEWLETT PACKARD, OV-101, 1,5 м,	240	240	260	3,4
HEWLETT PACKARD, OV-17, 1,5 м,	220	220	260	4,3
HEWLETT PACKARD, Карбовакс 20 М, 1,5 м	165	165	240	3,4

Обработка результатов анализа

Содержание хлорпрофама в пробе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{C_{cm} \times S_{np} \times V_k}{S_{cm} \times V_{xp} \times M}$$

где  $X$  – содержание препарата в пробе, мг/кг (л);

$C_{cm}$  – содержание препарата в стандартном растворе, нг;

$S_{cm}$  – площадь пика стандартного раствора гербицидов, мм<sup>2</sup>;

$S_{np}$  – площадь пика пробы, мм<sup>2</sup>;

$V_k$  – объем конечного раствора, в котором растворена проба, мл;

$V_{xp}$  – объем экстракта пробы, введенный в испаритель, мкл;

$M$  – навеска пробы, г.

### ***Требования безопасности***

При работе с приборами, оборудованием и реактивами должны соблюдаться требования безопасности, установленные в технических нормативных правовых актах.

Предельно допустимые концентрации применяемых при работе токсичных, едких и легко воспламеняющихся веществ в воздухе рабочей зоны не должны превышать значений, указанных в ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны» (далее – ГОСТ 12.1.005-88) и Санитарных правилах и нормах (далее СанПиН) 11-19-94 «Перечень регламентированных в воздухе рабочей зоны вредных веществ», утвержденных Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 09 марта 1994 г.

Параметры микроклимата на рабочих местах должны соответствовать требованиям СанПиН 9-80-98 «Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений», утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 25 марта 1999 г. № 12 и ГОСТ 12.1.005-88.

Работа с органическими растворителями, а также с жидким бромом проводится под вытяжной системой.

**Заключение.** В результате проведенных исследований разработан метод определения остаточных количеств гербицида хлорпрофам в растениях свеклы, картофеля, почве и воде. Отличительные особенности определения хлорпрофамы заключаются в особенностях подготовки пробы, что позволяет с достаточной чувствительностью анализировать препарат методом газожидкостной хроматографии с использованием детектора постоянной скорости рекомбинации или детектора электронного захвата. В предложенном варианте метод дает возможность проводить селективное определение хлорпрофамы в присутствии других пестицидов, используемых в программах защиты сахарной свеклы и картофеля.

### **Список литературы**

1. Гигиенические нормативы содержания действующих веществ пестицидов (средств защиты растений) в объектах окружающей среды, продовольственном сырье, пищевых продуктах [Электронный ресурс] : постановление М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 27 сент. 2012 г., № 149 // Национальный правовой Интернет-портал Респ. Беларусь. – 173 с. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W21226455p&p1=1>. – Дата доступа: 05. 05.2023.
2. Дополнение к Государственному реестру средств защиты растений и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь: утв. Советом по регистрации средств защиты растений и удобрений гос. учреждения « Гл. гос. инспекция по семеноводству, карантину и защите растений» (постановление, 17 августа 2021 г.) // М-во сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, Гл. гос. инспекция по семеноводству, карантину и защите растений. – Минск, 2021. – С.1.

3. Кислушко, П. М. Особенности определения микроколичеств фенилкарбаматных и фенилмочевинных гербицидов в объектах окружающей среды / П. М. Кислушко // Защита растений: сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр НАН Беларуси по земледелию, Ин-т защиты растений; редкол.: Л. И. Трепашко (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2020. – Вып. 44. – С. 238–246.

4. Мельников, Н. Н. Пестициды и регуляторы роста: справ. изд. / Н. Н. Мельников, К. В. Новожилов, С. Р. Белан. – М.: Химия, 1995. – 576 с.

5. Методические указания по определению остаточных количеств Хлорпрофама в воде, почве и картофеле // Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: сб. метод. указаний. МУК 4.1.1802 – 4.1.1820-03; 4.1.1822-4.1.1826-03 / Гос. система санитарно-эпидем. нормирования Рос. Федерации. – М., 2007. – Вып. 5. – С. 226–234.

6. Определение карбина, ИФК и хлор-ИФК в растительном материале и воде хроматографией в тонком слое // Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: сборник / М-во сел. хоз-ва СССР, Гос. комис. по хим. средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками; отв. ред. М. А. Клисенко. – М., 1977. – С. 233–235.

7. Спектрофотометрическое определение карбина, ИФК и хлор-ИФК в растительном материале // Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: сборник / М-во сел. хоз-ва СССР, Гос. комис. по хим. средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками; отв. ред. М. А. Клисенко. – М., 1977. – С. 230–232.

***P.M. Kislushko***

*RUE «Institute of Plant Protection», Priluki, Minsk region*

## **THE TECHNIQUE FOR IDENTIFYING CHLORPROPHAM RESIDUES IN PLANT MATERIAL, SOIL AND WATER USING GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY**

**Annotation.** The technique is developed for identifying trace amounts of chlorpropham in beet and potato, soil and water. It is based on extracting chlorpropham from water and plant material with chloroform, from soil with acetone, purification of the extracts on a silica gel column, bromination of the dry residue, followed by determination by gas-liquid chromatography. Detection limit (mg/kg): water – 0,001; soil, sugar beets, potatoes – 0,005.

**Key words:** chlorpropham, beet, potato, soil, water, gas-liquid chromatography, residues, analysis techniques.