

П. М. Кислушко, С. А. Арашкович

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

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ФЛОНИКАМИДА В ЯБЛОКАХ, ПОЧВЕ И ВОДЕ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Дата поступления статьи в редакцию: 26.05.2025

Рецензент: канд. биол. наук Войтка Д. В.

Аннотация. Разработана методика определения микроколичеств флоникиаида в яблоках, почве и воде. Способ основан на экстракции флоникиаида из воды, почвы и яблок органическими растворителями, очистке экстрактов на колонке с силикагелем с последующим определением методом газожидкостной хроматографии. Предел обнаружения (мг/кг): вода – 0,001; почва, яблоки – 0,05.

Ключевые слова: флоникиамид, методика определения, яблоки, почва, вода, газожидкостная хроматография, остаточные количества.

Введение. Флоникиамид входит в качестве действующего вещества в состав инсектицидных препаратов Флока Экстра, ВДГ (ф. Шандонг Вейфанг Рейнбоу Кемикал, Ко, ЛТД., Китай) и Флоники, ВДГ (ф. Глобахем Н.В., Бельгия).

Существующие методы определения остаточных количеств флоникиаида в воде, почве, растительном материале, а также в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест, в смывах с кожных покровов операторов основаны на использовании метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ–детектором [1-3]. Несмотря на хорошие метрологические характеристики (чувствительность, полнота извлечения, воспроизводимость), для повышения надежности идентификации флоникиаида в анализируемых образцах желательно сочетать методы определения, основанные на разных физических принципах.

С этой целью нами разработана методика определения флоникиаида в воде, почве и яблоках с помощью газожидкостной хроматографии.

Результаты исследований. При разработке способов пробоподготовки (экстракция, очистка экстрактов) для определения микроколичеств флоникиаида в яблоках, почве и воде учитывали физико-химические характеристики анализируемого вещества. Наличие в молекуле флоникиаида трех атомов фтора позволило использовать для определения ДЭЗ или ДПР, которые чувствительны к органическим веществам, содержащим галогены.

Для экстракции флониамида использовали органические растворители различной полярности: для воды – этилацетат, для почвы – смесь ацетона и н-гексана, для яблок – смесь этилацетата и н-гексана.

Для очистки экстрактов использовали хроматографические колонки, заполненные силикагелем.

Разработанные методические указания устанавливают способ идентификации и выполнения измерений массовой концентрации флониамида в яблоках, воде и почве с применением метода газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с детектором электронного захвата (ДЭЗ) и детектор постоянной скорости рекомбинации (ДПР).

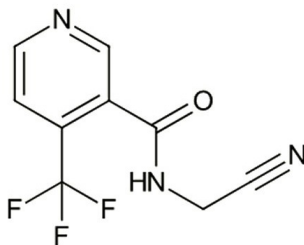
Методические указания носят рекомендательный характер.

1. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕЙСТВУЮЩЕГО ВЕЩЕСТВА

Флониамид

Название действующего вещества по ИЮПАК: N-cyanomethyl-4-(trifluoromethyl)nicotinamide.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_9H_6F_3N_3O$.

Молекулярная масса: 229.16.

Чистый препарат – белый порошок, который по мере снижения чистоты темнеет до бежевого цвета.

Температура плавления: 157,5.

Давление паров при 20 °C: 2,55 МПа.

Логарифм коэффициента распределения в системе н-октанол–вода при pH 7, 20 °C: $\text{LogP}_{ow} = 0,1$.

Константа диссоциации (pKa) при 25 °C: 11,6.

Растворимость в растворителях при 20 °C (мг/л): вода – 5300, дихлорметан – 4500, ацетон – 163500, этилацетат – 34200.

Краткая токсикологическая характеристика. Острая пероральная токсичность (LD50) для крыс составляет 884 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD50) для крыс составляет 2000 мг/кг.

Область применения препарата. Флониамид – инсектицид, используемый для борьбы с тлями, трипсами и белокрылкой в различных условиях, в том числе в теплицах [4].

Гигиенические нормативы для флониамида: в Республике Беларусь в соответствии с ГН № 37 от 25.01.2021 г. максимально допустимый уровень (МДУ) не установлен; в Российской Федерации в соответствии с СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания» от 28 января 2021 года № 2 в почве предельно-допустимая концентрация (ПДК) составляет 0,4 мг/кг (ориентировочная), в воде – 0,15 мг/кг, в плодовых семечковых МДУ – 0,2 мг/кг [5, 6].

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод основан на экстракции флониамида из воды, почвы и яблок органическими растворителями, очистке экстрактов на колонке с силикагелем с последующим определением с помощью газожидкостной хроматографии.

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографирования. В предлагаемых условиях метод специфичен.

3. МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДА

Метрологические характеристики метода приведены в таблице 1 и определяются валидационными характеристиками.

Таблица 1. – Метрологические характеристики метода определения содержания флониамида в воде, почве и яблоках

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95; n = 6$					
	предел количественного определения, мг/кг	диапазон определяемых концентраций, мг/кг	среднее значение определения, %	стандартное отклонение (S), %	относительное стандартное отклонение, (DS), %	доверительный интервал среднего %
Вода	0,001	0,001-0,10	85,5	4,20	0,050	85,5 ± 5,84
Почва	0,05	0,05-0,50	72,2	4,03	0,056	72,2 ± 5,60
Яблоки	0,05	0,05-0,50	79,7	1,71	0,021	79,7 ± 2,37

4. РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

Флониамид с содержанием действующего вещества 98,2 %.

Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2603–79.

Вода дистиллированная, ГОСТ 6709–72.

н-Гексан, х.ч., ТУ 20.14.11.110-05578119972–2021.

Натрий хлористый, х.ч., ГОСТ 4233–77.

Натрий серноокислый безводный, ч.д.а. ГОСТ–4166–76.

Этиловый эфир уксусной кислоты (этилацетат), х.ч., ГОСТ 22300–76.

Силикагель, Merck Silica gel 60 for column chromatography.

Стекловата (стекловолокно), ГОСТ 34338–2017.

Фильтры бумажные, синяя лента, ТУ 2642-001-68085491-2011.

Неподвижные фазы: OV-1 (3 %), хроматон N-супер (0,100-0,125 мм),

Карбовакс 20 М (15 %) на хроматоне N-супер.

5. СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ И ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА

Хроматограф газовый, Цвет-800 с детектором постоянной скорости рекомбинации (ДПР).

Хроматограф газовый, Кристалл 5000.1 с детектором электронного захвата (ДЭЗ).

Колонка хроматографическая капиллярная Rtx-50, 30 м.

Колонка хроматографическая стеклянная 1,5 м*2 мм.

Микрошприц емкостью 10 мкл МШ-10 Ф, ТУ 64-1-2850.

Шприц медицинский одноразовый 5 см³.

Пипетки мерные 0,1–5,0 см³, ГОСТ 29227–91.

Весы аналитические MB 210–А, Сартогсм.

Весы лабораторные ВЛК–500 г. – М, ГОСТ 24104–2001.

Воронки для фильтрования стеклянные, ГОСТ 25336–82.

Колбы грушевидные 50 см³, ГОСТ 25336–82.

Пробирки 25 см³, ГОСТ 1770-74.

Колбы конические с притертыми пробками 250 см³, ГОСТ 25336-82.

Колбы мерные 100, 250, 1000 см³, ГОСТ 1770-74.

Пробирки градуированные с притертыми пробками 5 см³, ГОСТ 1770–74.

Встряхиватель механический, ТУ 64-1-1081-73.

Вакуумный насос EDWARDS E2M 1,5.

Роторный испаритель IKA RV 10.

Баня водяная IKA HB 10 basic.

Мельница лабораторная электрическая.

Система подготовки воды Direct–Q 3 UV System (Millipore).

Могут быть использованы другие устройства с техническими характеристиками не хуже указанных.

6. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

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

7. ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРА

К выполнению измерений могут быть допущены лица, имеющие высшее или среднее специальное образование, обладающие необходимой подготовкой, изучившие требования безопасности и настоящую методику.

8. УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ

Выполнение измерений по методике осуществляется при температуре воздуха $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$, влажности воздуха не более 80 % и атмосферном давлении 84–106,7 кПа (630–800 мм ртутного столба).

9. ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

Кондиционирование колонки

Неподвижные фазы, нанесенные на Хроматон N-супер, засыпают в стеклянные колонки длиной 1500 мм и уплотняют под вакуумом. Все колонки (кроме Карбовакс 20 М) кондиционируют при температуре 280°C в течение 16–20 часов. Колонку, заполненную Карбовакс 20 М, кондиционируют 16–20 часов при температуре 225°C .

Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстрактов

В стеклянную колонку или медицинский шприц вместимостью 5 см³, с помещенным на дно ватным тампоном, предварительно закрыв сливной конец наливают 15 см³ смесь н-гексана и этилацетата (2:1) по объему и медленно всыпают 2 г силикагеля для колоночной хроматографии, так, чтобы растворитель вытеснил воздух из пор силикагеля. Дают растворителю стечь. Колонка готова к использованию.

Сухие остатки экстрактов из образцов почвы и яблок переносят на поверхность хроматографической колонки 5 мл смеси н-гексана и этилацетата (2:1) по объему, элюат отбрасывают. Затем через колонку пропускают 25 мл ацетона, элюат упаривают до 5–10 мл и хроматографируют.

Приготовление стандартных растворов

Основной стандартный раствор флониамида с содержанием 40 мкг см³ готовят растворением 0,01018 г эталонного вещества, с чистотой 98,2 % д.в., в ацетоне в мерной колбе на 250 см³. Растворы хранят в холодильнике при температуре $+4^\circ\text{C}$ в течение 6 месяцев.

Градуировочные растворы

Градуировочные растворы с концентрациями 0,50; 1,00; 2,00 и 4,00 мкг/см³ готовят из стандартного раствора соответствующим последовательным разбавлением ацетоном. Рабочие растворы хранят в холодильнике при температуре $+4^\circ\text{C}$ в течение недели.

Построение калибровочных графиков

Для построения калибровочного графика 2 мкл стандартных растворов, содержащих соответственно 0,50; 1,00; 2,0 и 4,0 мкг/см³ флониамида вводят в испаритель хроматографа.

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади хроматографического пика от массовой концентрации вещества в каждом градуировочном растворе устанавливают по двум сериям. Каждый градуировочный раствор хроматографируют не менее двух раз.

Градуировочный график представляет собой линейную зависимость площади пика от массовой концентрации в линейном диапазоне детектирования и имеет вид:

$$Y = b_1 \times x + b_0$$

Градуировку проводят не реже, чем 1 раз в квартал, а также после ремонта оборудования, при смене колонки, реактивов и иных вспомогательных материалов.

10. ОТБОР ПРОБ

Для анализа воды отбирают ее не менее двух литров в соответствии с требованиями СТБ ГОСТ Р 51592–2001 «Вода. Общие требования к отбору проб»; «Инструкции по отбору проб для анализа сточных и поверхностных вод», утвержденной Первым заместителем председателя Государственного комитета Республики Беларусь по экологии 16 февраля 1994 г. Пробы воды хранят при температуре не выше +4 °С в течение 3-х суток, при температуре –18 °С в течение двух недель. Перед анализом пробы фильтруют через неплотный бумажный фильтр.

Для анализа почвы отбирают ее не менее 1 кг в соответствии с требованиями ГОСТ 17.4.4.02–84 «Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа». Образцы почвы подсушивают на воздухе в темноте, помещают в герметичную полиэтиленовую тару и хранят в холодильнике при температуре от +4 °С до +6 °С не более двух недель. Для длительного хранения образцы почвы замораживают и хранят при –18 °С. Перед анализом пробы почвы просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм.

Для анализа яблок отбирают их не менее 1 кг в соответствии с требованиями ГОСТ 34668–2020 «Продукция пищевая. Методы отбора и пробоподготовка образцов (проб) для определения показателей безопасности». Пробы хранят в стеклянной посуде в холодильнике при температуре не выше +4 °С не более двух дней, при длительном хранении пробы замораживают и хранят в морозильной камере при температуре –18 °С.

11. ПРОВЕДЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Вода

К 50 мл воды в делительной воронке добавляют 10 г хлорида натрия, перемешивают до растворения соли. Экстрагируют этилацетатом

(3 раза по 30 мл, встряхивая каждый раз по 1 мин). Объединенные экстракты фильтруют через двойной бумажный фильтр «синяя лента», в который добавляют 5 г безводного сернокислого натрия и упаривают досуха. Сухие остатки растворяют в 5 см³ ацетона и 2–4 мкл вводят в испаритель хроматографа.

Почва

Навеску почвы 10 г встряхивают дважды по 30 мин с 50 мл смеси ацетона и н-гексана (1:1) в конических колбах на 250 мл. Фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента», в который помещают 5 г безводного сернокислого натрия. Экстракты упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 40 °С.

Яблоки

10 г измельченной пробы экстрагируют дважды по 50 мл смесью н-гексана и этилацетата (1:1 по объему) в конических колбах на 250 мл по 30 мин, фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента», в который помещают 5 г безводного сернокислого натрия. Объединенные экстракты упаривают досуха на ротационном испарителе при температуре 40 °С.

12. ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

Условия хроматографирования

Режимы хроматографического определения флониамида приведены в таблице 2. Идентификацию пиков проводят по времени удерживания, которое устанавливают при хроматографировании градуировочных растворов. Каждый раствор хроматографируют не менее двух раз. Предварительно хроматографируют контрольную пробу.

Таблица 2 – Условия ГЖХ-хроматографического определения флониамида

Режимы ГЖХ-анализа				Время удерживания, мин
Хроматограф, длина и тип колонки	Температура, °С			
	колонка	испаритель	детектор	
«Цвет-800», 1,5 м (Карбовакс 20 М) ДПР	170	220	240	2,0
«Цвет-800», 1,5 м (OV-1) ДПР	210	230	250	4,3
Кристалл 5000.1, 30 м, (капиллярная, Rtx-50), ДЭЗ	220	240	270	3,2

13. ОБРАБОТКА И ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Содержание действующего вещества в анализируемой пробе (X, мг/кг) рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{C_{ст} \times S_{пр} \times V_k}{S_{ст} \times V_{хр} \times M},$$

где X – содержание препарата в пробе, мг/кг (л); $C_{ст}$ – содержание препарата в стандартном растворе, нг; $S_{ст}$ – площадь пика стандартного раствора, мм²; $S_{пр}$ – площадь пика пробы, мм²; V_k – объем конечного раствора, в котором растворена проба, мл; $V_{хр}$ – объем экстракта пробы, введенный в испаритель, мкл; M – навеска пробы, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений.

$$\bar{X} = \frac{(X_1 + X_2)}{2},$$

где X_1 и X_2 – значения первого и второго параллельного измерений.

Находят показатель точности P для среднего двух параллельных измерений по формуле:

$$P = 100 \times \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}}{\bar{X} \times \sqrt{n}},$$

где n – количество параллельных измерений равное 2.

Показатель точности менее 3 % считается хорошим, от 3 % до 5 % удовлетворительным, а значение показателя более 5 % означает, что результаты статистического исследования недостаточно достоверны. В таком случае выясняют причины превышения показателя P уравнения, устраняют их и снова выполняют анализ.

Для учета потерь при воспроизведении методики следует проводить параллельное испытание с внесением добавки и контрольного образца всякий раз.

Метрологические характеристики метода действительны в диапазоне концентраций, приведенных в таблице 1 и в условиях конкретной лаборатории. В условиях иных лабораторий, при наличии иного оборудования и в ином диапазоне измеряемых концентраций, метод должен быть верифицирован либо валидирован должным образом.

Заключение. Разработанная методика позволяет определять остаточные количества флонирамида в воде, почве и яблоках с использованием газожидкостной хроматографии, при этом возможно использование как насадочных, так и капиллярных колонок и детекторов электронного захвата или постоянной скорости рекомбинации. Способ достаточно чувствителен, селективность определения достигается сочетанием условий пробоподготовки и подбором режимов газохроматографического процесса.

Список литературы

1. Измерение концентраций флоницида в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и смывах с кожных покровов операторов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: методические указания : МУК 4.1.3347-16: изд. офиц. : утв. 03.03.2016 : введ. впервые / Фед. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека ; разработ.: Т. В. Юдина, Н. Е. Федорова, В. Н. Волкова. – М. : Роспотребнадзор, 2016. – 16 с.
2. Определение остаточных количеств флоницида в воде, почве, яблоках и яблочном соке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии : 4.1. Методы контроля. Химические факторы : методические указания : МУК 4.1.3135-13 : изд. офиц. / Фед. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека ; разработ. В. И. Долженко [и др.]. – М. : Роспотребнадзор, 2014. – 15 с.
3. Особенности пробоподготовки при определении остаточных количеств пестицидов в почвах с различным содержанием органического вещества методом газожидкостной хроматографии / П. М. Кислушко, Е. А. Мышкевич, С. А. Арашкович, М. П. Лосева // Защита растений: сб. научн. тр. / Науч.-практ. центр НАН Беларуси по земледелию, Ин-т защиты растений ; редкол.: С. В. Сорока (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2024. – Вып. 48. – С. 280–286.
4. Об утверждении гигиенических нормативов: постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 25 янв. 2021 г. № 37 // Национальный правовой Интернет-портал Респ. Беларусь. – URL: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=C22100037&p1=1> (дата обращения: 13.09.2025).
5. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания : постановление Главного гос. санитарного врача РФ об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 1.2.3685-21 от 28 янв. 2021 г. № 2 // Электронный фонд правовых и нормативно-технических документов. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/573500115> (дата обращения: 13.09.2025).
6. PPDB: Pesticide Properties DataBase: [website]. – URL: https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz_insect.htm (date of access: 15.09.2025).

P. M. Kislushko, S. A. Arashkovich

RUE «Institute of plant protection», Priluki, Minsk region

METHODOLOGY FOR DETERMINING RESIDUES OF FLONICAMID IN APPLES, SOIL, AND WATER BY GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY

Annotation. The methodology for microdetermination of flonicamid in apples, soil and water is developed. The method is based on the extraction of flonicamid from water, soil, and apples using organic solvents, purification of the extracts on a silica gel column and subsequent determination by gas-liquid chromatography. The detection limit (mg/kg) is: water – 0,001; soil, apples – 0,05.

Key words: flonicamid, methodology for identification, apples, soil, water, gas-liquid chromatography, residues.