

ВИСОКОЕФЕКТИВНА РІДИННА ХРОМАТОГРАФІЯ ЯК ПЕРСПЕКТИВНИЙ МЕТОД ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРАМБЕНУ

І.М. МАГА

Національний авіаційний університет, м. Київ

Проведено дериватизацію хлорабену 4-нітрофенілдіазанієм. Досліджено екстракцію азодеривату різними екстрагентами, Вивчено умови хроматографування: склад рухомої фази, співвідношення компонентів, швидкість подачі елюента, хроматографічні параметри. Розроблена методика визначення хлорамбену методом ВЕРХ, встановлено межі лінійної залежності площі піку від концентрації хлорамбену. Методика апробована на модельних розчинах.

***Ключові слова:** хлорамбен, дериватизація, екстракційне вилучення, методика визначення.*

Вступ. Сільськогосподарське виробництво в сучасних умовах неможливо без застосування пестицидів. Штучно створені біоценози (агроценози), можуть функціонувати із заданою продуктивністю тільки за умови постійної підтримки в певних межах параметрів середовища [1], Сучасна служба захисту рослин від шкідників і хвороб базується переважно на застосуванні пестицидів хімічного синтезу, На думку дослідників, лише 10% пестицидів потрапляє в призначену мету, решта «летить повз», забруднюючи природу і знищуючи інші організми, і тільки 1% безпосередньо забезпечує токсичний ефект. Тому негативні наслідки, пов'язані з пестицидами, обумовлені головним чином руйнуванням біогеоценозів, в яких саме існування і чисельність окремих видів живих організмів тісно пов'язані між собою. При цьому зростає ймовірність віддалених наслідків,

зумовлених патологічним і генетичним дією ряду препаратів на біоту. Залишкові кількості пестицидів акумулюються і біоконцентруються в харчових (трофічних) ланцюгах [3]. Має місце винос залишкових кількостей пестицидів за межі оброблюваної території. Світова практика застосування пестицидів свідчить про те, що вони несуть в собі потенційну небезпеку. В зв'язку з цим, розробка нових, та вдосконалення відомих методів контролю пестицидів є актуальним завданням.

Серед активних сполук, що використовуються в гербіцидних препаратах важливе місце має хлорамбен (X), 3-аміно-2,5-дихлоробензойна кислота (рис. 1) [5], розроблений компанією «Union Carbide Corporation», (Houston, Texas, USA), яка з 2001 року увійшла у «Dow Chemical Company». Застосовується у вигляді гербіцидних препаратів. Температура плавлення 200-201°C, температура кипіння: 349 °C (1013 ГПа), густина 1,4062 г/см³. Розчинність (при 20°C) у воді 0,7 г/л, у спирті 172 г/л, у ацетоні 233 г/л, бензен 0,2 г/л, хлороформ 0,9 г/л. Константа дисоціації (pK_a), при 25°C становить 3,4 [5]. Препарати, форми метилового естеру, або амонійної чи натрієвої солі випускається в комерційних препаратах амбібен, оранаментал та ін., у вигляді 25% концентрату емульсії, 10% водорозчинних гранул, 24% водного концентрату та ін.

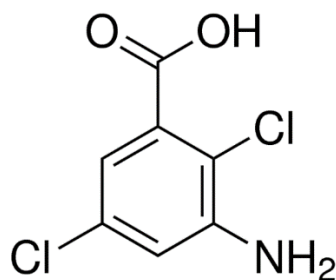


Рис. 1. Хімічна формула хлорамбену

В літературі [9-12] описані методи визначення хлорамбену з використанням ВЕРХ у поєднанні з тандемною маспектроскопією (UPLC/MS/MS), однак визначення за наведеними методами потребують дорогого важкодоступного

обладнання, та, реактивів, в деяких методиках, з радіоактивним міченим атомом ^{14}C , що є шкідливим і потребує особливостей роботи з такими сполуками.

Ціллю даної роботи є проведення дериватизації X, вилучення азодеривату хлорамбену (AX) органічними розчинниками та розробка методики визначення X у вигляді AX методом високоефективної рідинної хроматографії.

Матеріали та методи досліджень. Використовували аналітичний стандарт хлорамбену з вмістом діючої речовини >95,0% фірми “Merck”, 4-нітрофенілдіазоній у вигляді тетрафторборатної солі >97% фірми “Merck”, Ацетонілил “Sigma-Aldrich” для рідинної хроматографії. Водні розчини сполук готували розчиненням точної наважки речовини в дистильованій воді. Рухому фазу для ВЕРХ готували розчиненням ацетонітрилу в деіонізованій воді. Ацетонітрил для рухомої фази використовували Органічні розчинники використовували кваліфікації хч та чда. Використовували фосфатний буферний розчин 0.15 М.

Хроматографування проводили на рідинному хроматографі “Perkin-Elmer Series 10” (США). зі спектрофотометричним детектором. Використовували метод зворотнофазової хроматографії в ізократичному режимі: колонка сталева (250 x 4.6 мм вн. д.) заповнена фазою “Сіласорб С18”, діаметр частинок 5 мкм, рухома фаза ацетонітрил : вода, детектування проводили при $\lambda = 396$ нм, об'єм проби, що вводиться 20 мкл, швидкість подачі рухомої фази 1.2 см³/хв. Результати хроматографування обробляли за допомогою програми “Multichrome”. Концентрацію гідроген-іонів вимірювали на рН-метрі “Mettler Toledo” (Швейцарія).

Результати та їх обговорення. Дериватизацію проводили за методикою описаною в [5], там же наведена і схема дериватизації. Для вилучення триазену досліджували ряд органічних розчинників різних класів. Зокрема: насичені вуглеводні - гексан, гептан, ароматичні вуглеводні - бензин, толуен, о-ксилен галогенопохідні насичених вуглеводнів - дихлорметан, хлороформ, дихлоретан,

естери ацетатної кислоти - етилацетат, бутилацетат, ізоамілацетат. Кращим екстрагентами виявились дихлоретан та хлороформ. В дальніших дослідженнях як екстрагент використовували хлороформ.

Важливе значення на екстракцію АХ одержаного за [5] має вплив кислотності середовища, дію якого досліджували в межах від рН 2,1 до рН 10,4. Середовище створювали за допомогою фосфатного буферного розчину та за допомогою НСІ і NaOH. Експерименти показують, що найбільш ефективно вилучення спостерігається в межах рН 3,5-5,5 (рис. 2). Тобто АХ естрагується з слабо кислих розчинів, що обумовлено наявністю карбоксильної групи в структурі молекули.

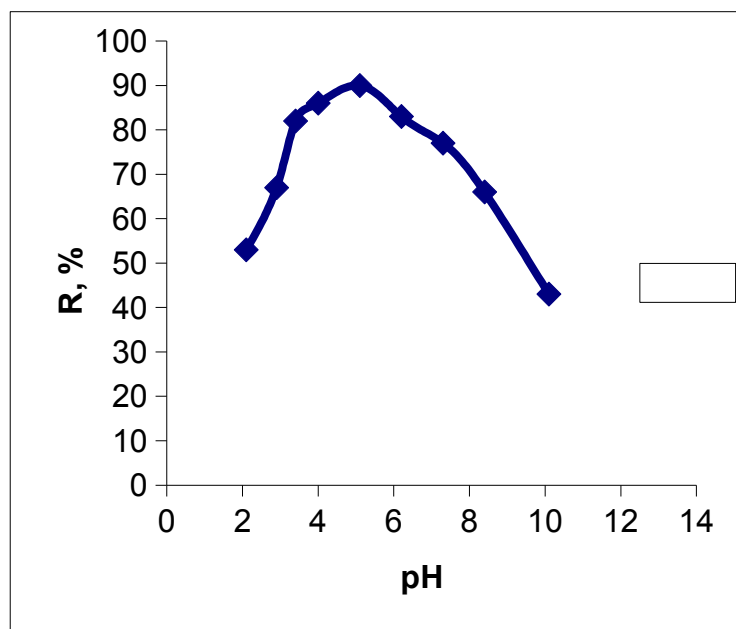
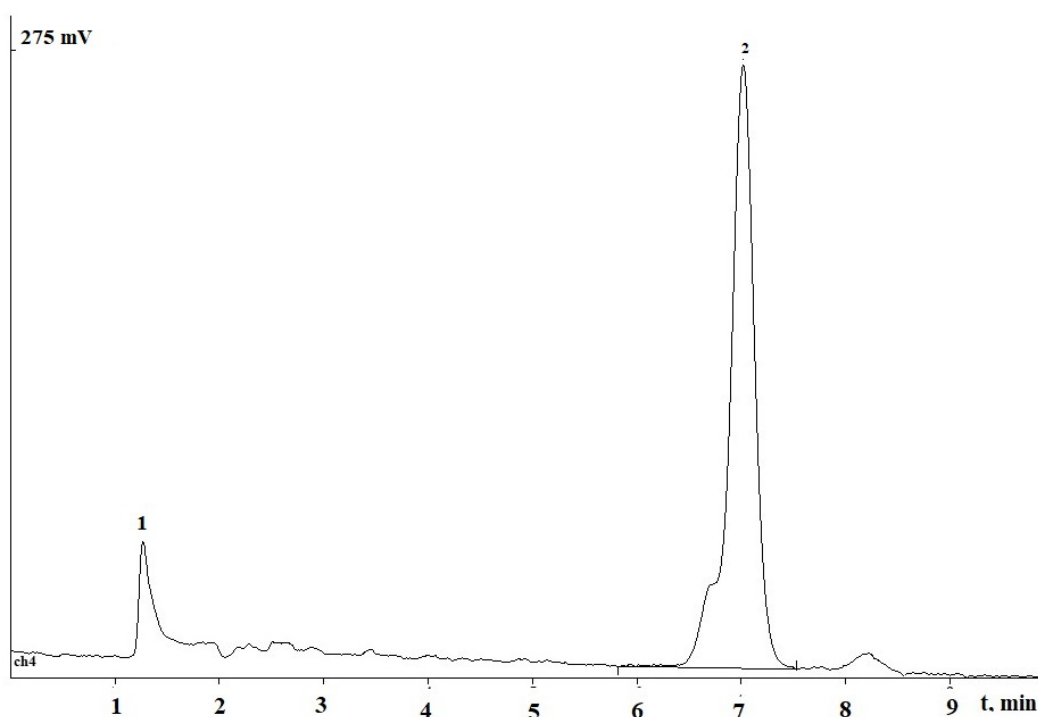


Рис. 2. Залежність повноти вилучення АХ в органічну фазу. Екстрагент хлороформ

Послаблення екстракції при рН менше 3,5 можливо пов'язано з протонуванням АХ. Зменшення вилучення в органічну фазу АХ при рН більше 5,5 пов'язано з переходом сполуки в катіонну форму. В дальніших дослідженнях вилучення проводили в присутності фосфатного буферного розчину рН 5.

Одержаний екстракт випарювали в потоці газоподібного азоту, розчиняли в ацетонітрилі, переносили в мірну колбу на 5 см³, розчин доводили ацетонітрилом до риски.

Відбирали аліквоту і хроматографували на рідинному хроматографі методом зворотнофазової хроматографії в ізократичному режимі, рухома фаза — ацетонітрил-вода у співвідношеннях 70 : 30. Детектування проводили при $\lambda = 396$ нм. Одержано хроматографічний пік з добрим розділенням, без наявності значної кількості домішок. Час утримання піку 7,0 хв. (рис. 2).



**Рис. 3. Хроматограма АХ (Рухома фаза ацетонітрил-вода 70 : 30),
 $\lambda = 396$ нм**

На основі одержаних даних розроблено методику визначення А в стічних водах.

Методика визначення хлорамбену методом ВЕРХ в стічних водах. В мірну колбу місткістю 10 см³ вносять 5.0 см³ розчину, що аналізують, який містить 0.2 – 50 мкМ (30 – 5000 мкг/см³) 3, ХА, додають 0.3 см³ формаміду,

перемішують, добавляють 0.3 см³ фосфатного буферного розчину рН 5 і 0.4 см³ водного розчину 4-нітрофенілдіазонію (2,5 мг/см³)., перемішують. Через 6 хв естрагують хлороформом 2 рази по 5 см³. Екстракт об'єднують, випрюють в потоці газоподібного азоту, сухий залишок розчиняють в 5 см³ ацетонітрилу і хроматографують. доводять додають 5 вміст колби етанолом до мітки і перемішують, охолоджують, знову доводять етанолом до мітки і хроматографують. Чутливість визначення 30 мкг/см³. Лінійна залежність площі хроматографічного піка від концентрації X спостерігається в межах 30-420 мкг/см³. Методика апробована на модельних розчинах, методом введено-знайдено. Результати досліджень наведено в таблиці. Проведена статистична обробка одержаних даних. Розраховані низькі значення середнього квадратичного відхилення вказують на добру збіжність та відтворюваність результатів аналітичних досліджень (табл. 1).

Таблиця 1

Результати визначення ХА в модельних розчинах

№	Введено, мкг/м ³	Знайдено мкг/м ³	S _r
1	34,0	33,7 ± 0,3	0,05
2	56,0	56,2 ± 0,4	0,04
3	182,0	181,6 ± 0,5	0,03

ВИСНОВКИ

Проведена дериватизація хлорабмену з 4-нітрофенілдіазонієм. Досліджено умови вилучення в органічну фазу: екстрагент, кислотність середовища, кратність екстракції. Розроблено високочутливу методику визначення хлорабмену методом високоефективної рідинної хроматографії в стічних вода. Використовуючи дану методику, можна з високою точністю та збіжністю визначати хлорамбен в стічних водах різних об'єктів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Zimdahl R. L. Chapter 16 - Properties and Uses of Herbicides / Zimdahl R. L. // Fundamentals of Weed Science / - 2018, - Vol. 5. – P. 463-499.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811143-7.00016-0>
2. Riggle B. D. Crop Safeners for Herbicides Chapter 12 - Controlled Release as a Factor for Protection of Crop / B. D. Riggle, D. Penner // Species from Herbicide Injury. - 1989. – Vol. 12. P. 283-298.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-332910-3.50016-3>
3. Abu-Qarem A.W. Herbicide safeners: uses, limitations, metabolism, and mechanisms of action / A.W. Abu-Qarem, H.J. Duncan // Chemosphere. - 2002. – Vol. 48. - № 9. P. 965-974.
[https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00185-6](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00185-6)
4. Gupta P.K. Toxicity of herbicides / P.K. Gupta // Veterinary Toxicology. - 2012, - Vol. 54. – P. 631-652.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385926-6.00065-X>
5. Wells M.J.M. Solid-phase extraction of acidic herbicides. Review. / M.J.M. Wells, L.Z. Yu // Journal of Chromatography A. – 2000. Vol. 885. P. 237-250.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00206-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00206-5)
6. Zeliger H.I. Toxicology of Global Warming / H.I. Zeliger // Human Toxicology of Chemical Mixtures. - 2011. – P. 507-519.
<https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-3463-8.00037-0>
7. Лурье Ю.Ю. Справочник по химии / Ю.Ю. Лурье Москва: Химия. – 1971. – 456 с.
8. Мага І.М. Хіміко-аналітичні характеристики триазену 3,5-дихлораніліну/ І.М. Мага // Укр. хим. журнал. — 2010. — Т. 76, № 6. — С. 115 — 120.
9. Thiam A., Sirés I., Salazar R., Brillas E. On the performance of electrocatalytic anodes for photoelectro-Fenton treatment of synthetic solutions and real water spiked

with the herbicide chloramben // A. Thiam, Ignasi Sirés, Ricardo Salazar. Enric Brillas // Applied Catalysis B: Environmental. 1979. - Vol. 22. – № 2. – P. 149-158.

[https://doi.org/10.1016/S0926-3373\(99\)00046-6](https://doi.org/10.1016/S0926-3373(99)00046-6)

10. On the performance of electrocatalytic anodes for photoelectro-Fenton treatment of synthetic solutions and real water spiked with the herbicide chloramben / Thiam A., Sirés I., Salazar R., Brillas E. // Applied Catalysis B: Environmental. – 1979. - Vol. 22. – № 2. – P. 149-158.

11. Photocatalytic and photolytic transformation of chloramben in aqueous solutions / A.B. Prevot, M. Vincenti, A. Bianciotto, E. Pramauro // Applied Catalysis B: Environmental. – 1999. – Vol. 22. № 9. – P. 149-158.

[https://doi.org/10.1016/S0926-3373\(99\)00046-6](https://doi.org/10.1016/S0926-3373(99)00046-6)

12. Stoller E. W. The Kinetics of Amiben Absorption and Metabolism as Related to Species Sensitivity // E. W. Stoller // Plant Physiology. – 1969. Vol. 4. - №1, - P. 854-860.

ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МЕТОД ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХЛОРАМБЕНУ

И.М. МАГА

Национальный авиационный университет, г. Киев

Выполнено дериватизацию хлорабена с 4-нитрофенилдиазанием. Исследовано экстракцию азодеривата различными экстрагентами. Изучено условия хроматографирования: состав подвижной фазы, соотношение компонентов, скорость подачи элюента, хроматографические параметры. Разработана методика определения хлорабена методом ВСЖХ, установлены пределы линейности площади хроматографического пика от концентрации хлорабена. Методика апробирована на модельных растворах.

Ключевые слова: хлорамбен, дериватизация, экстракционное извлечение, методика определения.

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY AS A PROSPECTIVE METHOD FOR DETERMINING CHLORAMBENE

I.M. MAGA

National Aviation University, Kyiv

Chloraben derivatization with 4-nitrophenyldiazonium was performed. The extraction of azoderivative by various extractants has been studied. The chromatography conditions were studied: the composition of the mobile phase, the ratio of components, the feed rate of the eluent, chromatographic parameters. A method for the determination of chloramben by the method of HPLC, has been developed, and the limits of the linear dependence of of the chromatographic peak on the concentration of chloramben. The technique is tested on model solutions.

Keywords: chloramben, derivatization, extraction, method of determination.