

# АНАЛІТИЧНИЙ КОНТРОЛЬ ДІЮЧИХ

## речовин класу імідазолінонів у препаративних формах гербіцидів

**Мета.** Вибір хроматографічного методу і розробка методики аналітичного визначення імазетапіру, імазамоксу та імазапіру в препаративних формах гербіцидів за сумісної присутності. **Методи.** Діючі речовини аналізували методом тонкошарової хроматографії. Лінійний діапазон залежності площі хроматографічних зон від кількості діючої речовини оцінювали математично-статистичним методом. **Результати.** Визначення пестицидів методом тонкошарової хроматографії включає основні етапи: класифікація пестицидів за полярністю; вилучення діючих речовин з аналізованої проби; хроматографічне розділення, детектування та кількісне визначення. Визначальним за аналізу є дипольний момент ( $\mu$ , Д), що характеризує полярність сполук. Імазетапір, імазамокс та імазапір — полярні сполуки ( $\mu \geq 6$ , Д) з відповідними значеннями  $\mu$ : 6,1; 6,4 та 6,8 Д. Вилучали діючі речовини етанолом. Якісне визначення — у тонкому шарі адсорбенту силкагель в рухомій фазі: етанол + оцтова кислота у співвідношенні 4:1,5. Ідентифікували сполуки під хроматоскопом ( $\lambda$  254 нм) та з використанням проявляючого реагенту розчину аміаку срібла. Градувальна залежність площі хроматографічної зони сполуки від її кількості є лінійною в діапазоні детектування 0,30–1,30 мкг і описується рівнянням регресії для: імазетапіру  $S = 12,345 C + 0,7778$  ( $R^2 = 0,99$ ); імазапіру  $S = 9,3671 C + 1,081$  ( $R^2 = 0,99$ ); імазамоксу  $S = 7,6234 C + 1,4462$  ( $R^2 = 0,98$ ). Рівняння використовували для кількісного визначення діючих речовин на хроматограмі. **Висновки.** Використання методу тонкошарової хроматографії дає змогу вибрати селективні умови аналізу імазетапіру, імазамоксу та імазапіру за сумісної присутності в препаративних формах гербіцидів. Розроблена методика є експресним методом контролю і забезпечує визначен-

**Л.М. ЧЕРВ'ЯКОВА,**  
кандидат сільськогосподарських наук

**Т.П. ПАНЧЕНКО,**  
кандидат сільськогосподарських наук

**О.І. БОРЗИХ,**  
доктор сільськогосподарських наук,  
академік НААН  
Інститут захисту рослин НААН,  
вул. Васильківська, 33, м. Київ,  
03022, Україна,  
e-mail: lac\_chp@ukr.net

ня діючих речовин в процесі одного аналізу з високою точністю (відносна похибка менше 5% при  $n = 5$ ,  $P = 0,95$ ). Аналітичне забезпечення розробленого та запатентованого методу дає змогу проводити аналітичний контроль діючих речовин класу імідазолінонів у формуляціях пестицидів аналітичними та токсикологічними лабораторіями, випробувальними службами без використання дорогих приладів.

**аналітичний контроль, препаративна форма, тонкошарова хроматографія, імідазолінони**

Невід'ємним елементом сучасних технологій вирощування сільськогосподарських культур є стратегія застосування гербіцидів, яка передбачає впровадження комбінованих препаратів на основі двох і більше діючих речовин. Останнім часом широко застосовуються гербіциди на основі похідних імідазолінону, яких на сьогодні в Україні зареєстровано близько 32 [1]. Імідазолінони — сполуки системної дії, пригнічують активність ацетоллактатсинтетази — ензиму ацетогідроксильної кислоти, порушують синтез протеїну, ДНК і уповільнюють ріст рослинних клітин. Типовими представниками цього класу є: імазамокс, імазапір та імазетапір [2]. Застосування в сільському господарстві таких препаратів ставить завдання одночасного їх визначення в різних матрицях.

Розширення асортименту препаратів продовжує стимулювати розробку і застосування методів аналітичного визначення. В Україні, в аналітичній хімії пестицидів існує два основних напрями: аналіз залишкових кількостей в різних матрицях та контроль препаративних форм (діючих речовин пестицидів) [3]. Перший застосовується для контролю залишків у сільськогосподарській продукції та об'єктах довкілля і базується на необхідності розробки як окремих методик для кожного пестициду та кожної матриці [4–10], так і методик для аналізу багатокомпонентних пестицидів, що забезпечує їхнє одночасне визначення в одній наважці [11]. Щодо контролю препаративних форм — нині практично відсутні методики визначення діючих речовин в комбінованих пестицидах та немає систематичного підходу вирішення цієї проблеми. Аналітичний контроль препаратів координує міжнародна організація СІРАС, яка забезпечує розробку та валідацію аналітичних методик для визначення нових препаратів та діючих речовин. Ідентифікувати їх можливо тільки методом високоефективної рідинної хромато-мас-спектрометрії (ВЕРХ/МС/МС) за відповідними базами діючих речовин. Але існують цілі класи пестицидів які не атестовані СІРАС методиками для контролю препаративних форм (наприклад: імідазолінони, деякі сульфонілсечовини та ін.) [12, 13]. Тому постає завдання визначення імазетапіру, імазапіру та імазамоксу в препаративних формах в процесі одного аналізу.

**Мета дослідження** — вибір хроматографічного методу і розробка методики аналітичного визначення імазетапіру, імазамоксу та імазапіру в препаративних формах гербіцидів за сумісної присутності.

**Матеріали та методи досліджень.** Характеристика та фізико-

хімічні властивості досліджуваних діючих речовин наведено в таблиці.

Хроматографічний аналіз суміші діючих речовин здійснювали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) за використання пластинок „SORBFIL” з тонким шаром адсорбенту (з додаванням флуоресцентного УФ-індикатора), нанесеним на алюмінієву підкладку. Ідентифікацію імазамоксу, імазапіру та імазетапіру проводили за величиною  $R_f$ , а кількісне їхнє визначення — за формалізованою залежністю величини площі хроматографічних зон від кількості діючої речовини з використанням кореляційного та регресійного аналізів.

**Результати досліджень.** Нині в аналітичній хімії пестицидів основними фізико-хімічними методами аналізу органічних сполук залишаються хроматографічні методи. За вибору методу аналізу, крім аналітичних завдань, які потрібно вирішувати, постає питання доступності і наявності приладів, їх цінової категорії. Для аналітичного контролю препаративних форм пестицидів, особливо з низьким вмістом діючих речовин у формуляціях, найбільш прийнятним є метод тонкошарової хроматографії (ТШХ), як варі-

ант рідинної хроматографії (РХ), який забезпечує селективне детектування досліджуваних сполук за оптимальних умов розділення, якісного та кількісного визначення; має високу чутливість, є експресним і простим у виконанні.

Визначення пестицидів, відповідно до алгоритму хіміко-аналітичного моніторингу, включає низку основних етапів: класифікація пестицидів за полярністю; вилучення діючих речовин з аналізованої проби; хроматографічне розділення, детектування та кількісне визначення [14].

Вибір методу аналізу лімітується фізико-хімічними властивостями пестициду. Досліджувані сполуки належать до одного хімічного класу і мають дуже схожі фізико-хімічні властивості (табл.), що ускладнює їх визначення за сумісної присутності в матриці. За багаторічними дослідженнями лабораторії аналітичної хімії пестицидів, властивості пестицидів доцільно характеризувати, послуговуючись інтегральним показником — дипольний момент ( $\mu$ , Дебай), що характеризує полярність сполук і є визначальним за проведення наступних етапів аналізу. За триступеневою класифікацією імазетапір, імазамокс та імазапір є сполуками полярними ( $\mu \geq 6$ ,

Дебай), дипольні моменти яких становлять 6,1; 6,4 та 6,8 Дебай відповідно.

Одним з поширених методів вилучення пестицидів з різних матриць залишається рідинна екстракція. Вона є універсальним, експресним та швидким методом, який не призводить до руйнації компонентів [3].

Процеси екстракції тісно пов'язані з процесом розчинності сполук. Із збільшенням полярності пестицидів збільшується розчинність їх в полярних розчинниках з  $\epsilon > 20$ : ацетоні, етанолі, метанолі. Найкращим екстрагентом буде той, значення діелектричної проникності ( $\epsilon$ ) якого близьке до значення дипольного моменту сполуки. Тому екстракцію (вилучення) діючих речовин з досліджуваних препаратів проводять етанолом (з урахуванням розчинності діючих речовин), що забезпечує найбільший відсоток вилучення.

Хроматографічне розділення та детектування досліджуваних сполук є також важливим етапом визначення, який включає підбір рухомої фази та проявляючого реагенту, встановлення мінімальної кількості речовини, що детектується, та лінійного діапазону детектування. За аналізу препаративних форм, крім досліджуваної сполуки, екстракти містять значну кількість домішок, які можуть утворювати сторонні зони локалізації і ускладнювати хроматографічне розділення та визначення діючих речовин. Аналіз суміші діючих речовин проводили в тонкому шарі адсорбенту силікагель в насиченій рухомій фазі (суміш етанолу з оцтовою кислотою у об'ємному співвідношенні 4 : 1,5) з діелектричною проникністю  $\epsilon = 19,4$ . Елюююча здатність такої фази зумовлює різну швидкість руху досліджуваних сполук в адсорбенті, пропорційно величині  $\mu$ , та формування зон їх локалізації з відповідними значеннями  $R_f$ : для імазетапіру 0,62; імазамоксу 0,51; імазапіру 0,45.

Ідентифікують сполуки двома способами: 1 — інструментальне детектування; 2 — з використанням відповідних проявляючих (хромогенних) реагентів залежно від наявних реакційно здатних груп елементів та чутливості. Перший спосіб базується на властивості досліджуваних сполук

**Характеристика діючих речовин**

Параметри	Діюча речовина		
	імазапір	імазамокс	імазетапір
Назва за ІЮПАК	2-(4-ізопропіл-4-метил-5-оксо-2-імідазолін-2-іл)нікотинова кислота	(RS)-2-(4-ізопропіл-4-метил-5-оксо-2-імідазолін-2-іл)-5-метоксиметилнікотинова кислота	(RS)-5-етил-2-(4-ізопропіл-4-метил-5-оксо-2-імідазолін-2-іл)нікотинова кислота
Структурна формула			
Емпірична формула	$C_{13}H_{15}N_3O_3$	$C_{15}H_{19}N_3O_4$	$C_{15}H_{19}N_3O_3$
Молекулярна маса	261,3	305,3	289,3
Розчинність у воді (25°C), г/л	11,3	(рН 5) 116, (рН 7) >626	1,4
Розчинність у органічних розчинниках (25°C), г/л	метанол — 105; ацетон — 33,9; гексан — $9,5 \times 10^{-3}$ ; толуол — 1,8	метанол — 67,0; ацетон — 29,3; гексан — $7 \times 10^{-3}$ ; толуол — 2,2	метанол — 105; ацетон — 48,2; гексан — 0,9; толуол — 5
Препарати	Арсенал Новий, РК; Грейдер, РК	Пульсар 40, РК; Парадокс, РК	Євро-Ланг, р.к.; Ізмурод, РК; Парі, в.р.к.; Пікадор, РК; Пікет SL, РК; Прадо, РК; Сапфір, в.р.к.; Серп, в.р.к.; Тапір, в.р.к.; Юпітер, в.р.к.
	Віталйт, РК; Євро-Лайтнінг, РК; Євро-Ленд, РК; Каптора, РК		

утворювати люмінесцентні комплекси за довжини хвилі спектра  $\lambda = 254$  нм, що розширює можливість ідентифікації сполук. За проявлення тонкошарових хроматограм розчином аміаку срібла в зонах локалізації сполук утворюються темні плями відновленого срібла.

За визначених селективних умов аналізу мінімальна кількість детектування кожної сполуки становить 0,30 мкг; лінійний діапазон детектування — 0,30—1,30 мкг (рис. 1). Градувальні залежності площі хроматографічної зони ( $S$ , мм<sup>2</sup>) діючої речовини від її кількості в градувальному розчині ( $C$ , мкг) описуються рівняннями лінійної регресії ( $P = 0,95$  та  $n = 5$ ) для:

**імазетапіру**

$$S = 12,345 C + 0,7778, R^2 = 0,99;$$

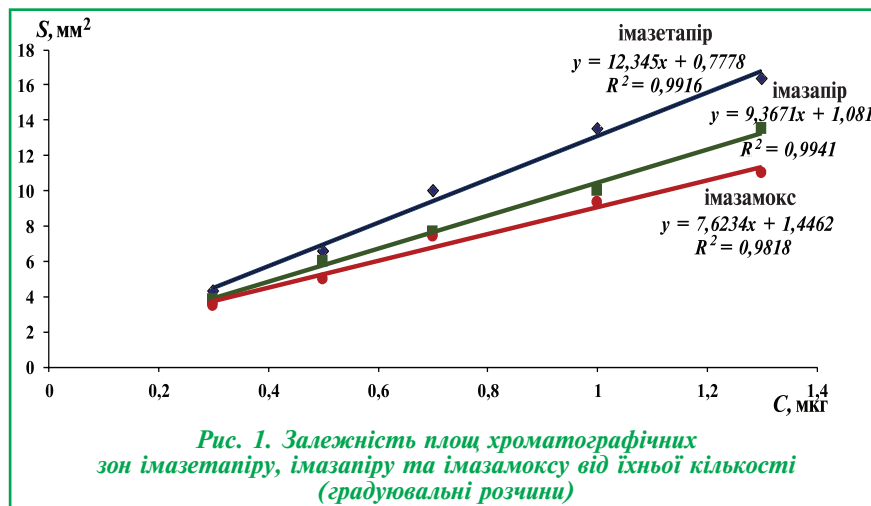
**імазапіру**

$$S = 9,3671 C + 1,081, R^2 = 0,99;$$

**імазамоксу**

$$S = 7,6234 C + 1,4462, R^2 = 0,98.$$

Коефіцієнти детермінації  $R^2$ , які показують частку мінливості результативного показника ( $S$ ) від факторіального ( $C$ ), набувають



**Рис. 1. Залежність площ хроматографічних зон імазетапіру, імазапіру та імазамоксу від їхньої кількості (градувальні розчини)**

відповідних значень. Рівняння регресії використовують для кількісного визначення (мкг) діючих речовин на хроматограмі.

Вирішення поставленої аналітичної задачі дало змогу розробити експрес методику (блок-схему) визначення імазапіру, імазамоксу та імазетапіру в препаративних формах гербіцидів за їхньої сумісної присутності (рис. 2).

Встановлені селективні умови аналізу імідазолінонів були фундаментальною основою патенту №120888 (Україна) [15].

Дослідження проведено в рамках ПНД 12 Наукові основи сучасних технологій прогнозу і управління фітосанітарним станом агроценозів (Захист рослин); № ДР 0116U003542, 0119U001156.

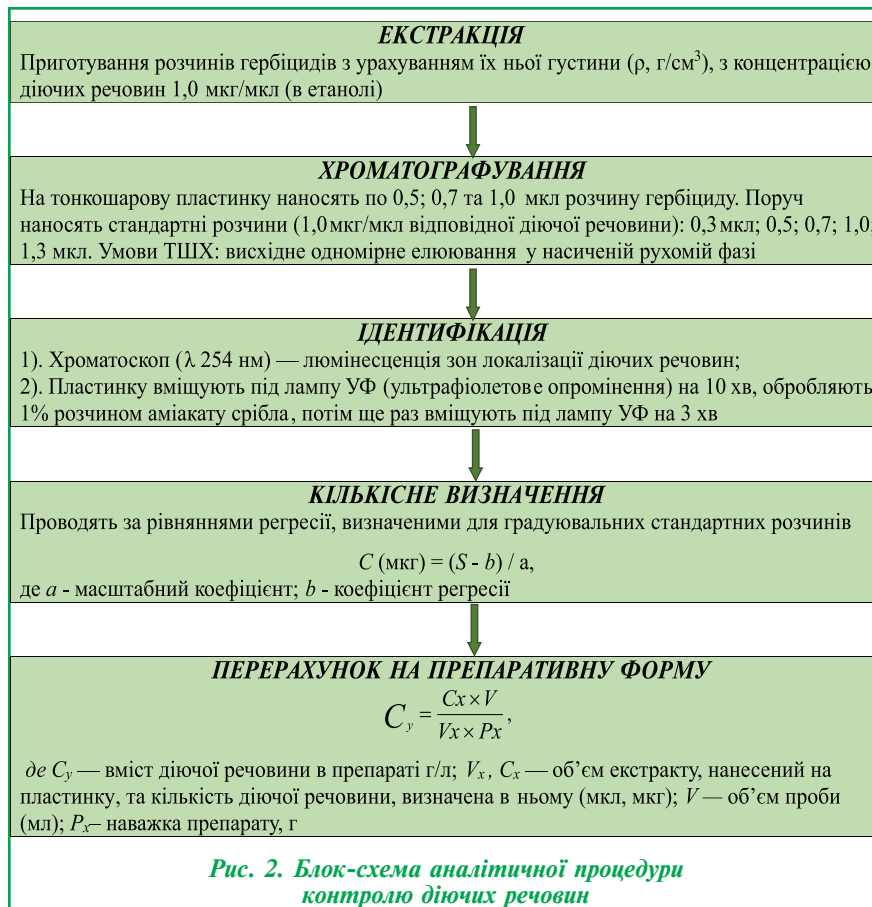
**ВИСНОВКИ**

Використання методу тонкошарової хроматографії дає змогу вибрати селективні умови аналізу імазетапіру, імазамоксу та імазапіру за сумісної присутності в препаративних формах гербіцидів. Розроблена методика є експресним методом контролю і забезпечує визначення діючих речовин в процесі одного аналізу з високою точністю (відносна похибка, менше 5% за  $n = 5$ ,  $P = 0,95$ ).

Аналітичне забезпечення (впровадження) розробленого та запатентованого методу дає змогу проводити аналітичний контроль діючих речовин класу імідазолінонів у формуляціях пестицидів аналітичними та токсикологічними лабораторіями, випробувальними службами без використання дорогих приладів.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні, Київ: ЮНІВЕСТ МЕДІА, 2018. 1040 с.
2. Кравчук О.П., Жмійко П.Г., Медведєв В.І. та ін. Токсиколого-гігієнічна оцінка та регламентація застосування гербіцидів на основі похідних імідазолінону на соняшнику. *Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки*. 2017. № 3. С. 5—14. DOI: 10.33273/2663-4570
3. Клисенко М.А., Александрова Л.Г., Демченко В.Ф., Макаручук Т.Л. Аналітична хімія залишкових кількостей пестицидів: навч. посіб. Київ: ЕКОПІНТОКС, 1999, 238 с.
4. Баранов Ю.С., Демченко В.Ф., Земцова О.В. Методи визначення мультизалишкових кількостей пестицидів в Україні.



**Рис. 2. Блок-схема аналітичної процедури контролю діючих речовин**



Журнал Хроматографічного товариства. 2018. Т. XVIII. С. 3—16. DOI: 10.15407/zht2018.64.005

5. Гиренко Д.Б., Омельчук С.А., Петрунук В.Л., Попов А.В. Временные методические указания по определению остаточных количеств имазетапира в сое, горохе, сырье лекарственных культур, почве, воде методом тонкослойной хроматографии № 6245-91 // Сб. Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. 1998. № 24. С. 32—37.

6. Коршун М.М., Гиренко Д.Б., Коршун О.М., Дема О.В. Методичні вказівки з визначення імазетапіру у зерні сої та гороху методом високоефективної рідинної хроматографії № 583-2005. Зб. Методичні вказівки з визначення мікроколичеств пестицидів в харчових продуктах, кормах та навколишньому середовищі. 2008. № 54. С. 89—106.

7. Дема О.В., Коршун М.М., Гиренко Д.Б., Коршун О.М. Методичні вказівки з визначення імазетапіру у воді методом високоефективної рідинної хроматографії № 474-2004. Зб. Методичні вказівки з визначення мікроколичеств пестицидів в харчових продуктах, кормах та навколишньому середовищі. 2007. № 47. С. 57—70.

8. Мельниченко Т.І., Поліщук Д.І., Терещук О.В. Методичні вказівки з визначення імазетапіру у лісових ягодах та грибах методом газорідинної хроматографії № 412-2003. Зб. Методичні вказівки з визначення мікроколичеств пестицидів в харчових продуктах, кормах та навколишньому середовищі. 2004. № 39. С. 159—167.

9. Горбачевський Р.В., Коршун М.М., Коршун О.М. Методичні вказівки з визначення імазетапіру у ґрунті, насінні ріпаку методом високоефективної рідинної хроматографії № 722-2007; № 723-2007. Зб. Методичні вказівки з визначення мікроколичеств пестицидів в харчових продуктах, кормах та навколишньому середовищі. 2011. № 66. С. 133—164.

10. Коршун М.М., Горбачевський Р.В., Коршун О.М. Методичні вказівки з визначення імазамоксу у ґрунті, насінні соняшнику, ріпаку, зерні гороху і сої методом високоефективної рідинної хроматографії № 650-2006; № 651-2006. Зб. Методичні вказівки з визначення мікроколичеств пестицидів в харчових продуктах, кормах та навколишньому середовищі. 2008. № 60. С. 83—113.

11. Пат. 24827 UA, МПК (2006), G01N 30/00. Спосіб визначення імідазолінонових гербіцидів у воді та ґрунті. Бардов В.Г., Омельчук С.Т., Коршун М.М., Гиренко Д.Б., Горбачевський Р.В.; заявник і патентовласник Національний медичний університет імені О.О. Богомольця. № 200703435; заявл. 24.11.2010; опубл. 11.04.2011. Бюл. №7.

12. Самкова О.П., Баранов Ю.С., Дробович І.Н. К проблеме контроля препаративных форм пестицидов в Украине. Журнал Хроматографічного товариства. 2016. Т. XVI. № 1—4. С. 24—30. DOI: 10.15407/zht2016.59.024

13. International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides. Guidelines on data requirements for the registration of pesticides. FAO/WHO, 2013. 75 p.

14. Борзых О.І., Панченко Т.П., Червякова Л.М., Гаврилюк Л.Л. Алгоритм хіміко-аналітичного моніторингу пестицидів. Методичні рекомендації. 2020. DOI: 10.36495/UDC631.95alhoritym/IZR2020 URL: https://ipp.gov.ua/wp-content/uploads/2020/11/algorithm-khim.-anal.-monitoring.pdf

15. Пат. №120888 Україна, МПК (2017.01), G01N 30/00. Спосіб визначення діючих речовин класу імідазолінонів: імазетапіру та імазамоксу в препаративних формах гербіцидів. Панченко Т.П., Червякова Л.М., Адаменко Н.М.; заявник і патентовласник Інститут захисту рослин НААН. № 2017 04702; заявл. 15.05.2017; опубл. 27.11.2017. Бюл. № 22.

Червякова Л.Н., Панченко Т.П., Борзых А.И. Институт защиты растений НААН, ул. Васильковская, 33, г. Киев, 03022, Украина, e-mail: lac\_chp@ukr.net

#### Аналитический контроль действующих веществ класса имидазолинонов в препаративных формах гербицидов

**Цель.** Выбор хроматографического метода и разработка методики аналитического определения имазетапира, имазамокса, имазетапира в препаративных формах гербицидов при совместном присутствии. **Методы.** Действующие вещества анализировали методом тонкослойной хроматографии. Линейный диапазон зависимости площади хроматографических зон от количества действующего вещества оценивали математическостатистическим методом. **Результаты.** Определение пестицидов методом тонкослойной хроматографии включает основные этапы: классификация пестицидов по полярности; извлечения действующих веществ из анализируемой пробы; хроматографическое разделение, детектирование и количественное определение. Определяющим при проведении анализа является дипольный момент ( $\mu$ , Д), характеризующий полярность соединений. Имазетапир, имазамокс и имазетапир — соединения полярные ( $\mu \geq 6$ , Д) с соответствующими значениями  $\mu$ : 6,1; 6,4 и 6,8 Д. Извлечения действующих веществ проводят этанолом. Качественное определение — в тонком слое адсорбента силикагель в подвижной фазе: этанол + уксусная кислота в соотношении 4 : 1,5. Идентифицируют соединения под хроматоскопом ( $\lambda$  254 нм) и с использованием проявляющего реагента раствора аммиака серебра. Градуировочная зависимость площади хроматографической зоны соединения от ее количества является линейной в диапазоне детектирования 0,30—1,30 мкг и описываются уравнениями регрессии для: имазетапира  $S = 12,345 C + 0,7778$ ,  $R^2 = 0,99$ ; имазетапира  $S = 9,3671 C + 1,081$ ,  $R^2 = 0,99$ ; имазамокса  $S = 7,6234 C + 1,4462$ ,  $R^2 = 0,98$ . Уравнение используют для количественного определения действующих веществ на хроматограмме. **Выводы.** Использование метода тонкослойной хроматографии позволяет выбрать селективные условия анализа имазетапира, имазамокса и имазетапира при совместном присутствии в препаративных формах гербицидов. Разработанная методика является экспрессным методом контроля и обеспечивает определение действующих веществ в процессе одного анализа с высокой точностью (относительная погрешность менее 5% при  $n = 5$ ,  $P = 0,95$ ). Аналитическое обеспечение разработанного и запатен-

тованного метода позволяет проводить аналитический контроль действующих веществ класса имидазолинонов в формуляциях пестицидов аналитическими и токсикологическими лабораториями, испытательными службами без использования дорогостоящих приборов.

#### аналитический контроль, препаративная форма, тонкослойная хроматография, имидазолиноны

Cherviakova L., Panchenko T., Borzykh O. Institute of Plant Protection of NAAS, 33, Vasylykvska str., Kyiv, 03022, Ukraine, e-mail: lac\_chp@ukr.net

#### Analytical control of active substances of the class of imidazolinones in herbicide formulations

**Goal.** The choice of a chromatographic method and the development of a method for the analytical determination of imazethapyr, imazamox, imazapyr in herbicide preparative forms in the joint presence. **Methods.** Active substances were analyzed by thin layer chromatography. The linear range of the dependence of the area of chromatographic zones on the amount of active substance was assessed by a mathematical-statistical method. **Results.** Determination of pesticides by thin-layer chromatography includes the main stages: classification of pesticides by polarity; extraction of active substances from the analyzed sample; chromatographic separation, detection and quantification. The decisive factor in the analysis stages is the dipole moment ( $\mu$ , D), which characterizes the polarity of the compounds. Imazethapyr, imazamox and imazapyr are polar compounds ( $\mu \geq 6$ , D) with the corresponding values: 6.1; 6.4 and 6.8 D. Extraction of active substances is carried out with ethanol. Qualitative determination — in a thin layer of adsorbent silica gel in the mobile phase: a mixture of ethanol with acetic acid in a ratio of 4 : 1.5. Identify compounds at the wavelength of the spectrum  $\lambda$  254 nm and using the developing reagent silver ammonia. The calibration dependence of the area of the chromatographic zone of the compound on its amount is linear in the detection range of 0.30—1.30  $\mu\text{g}$  and is described by the regression equations for: imazethapyr  $S = 12.345 C + 0.7778$ ,  $R^2 = 0.99$ ; imazapyr  $S = 9.3671 C + 1.081$ ,  $R^2 = 0.99$ ; imazamox  $S = 7.6234 C + 1.4462$ ,  $R^2 = 0.98$ . The equation is used to quantify the active ingredients in the chromatogram. **Conclusions.** The use of the method of thin layer chromatography makes it possible to select selective conditions for the analysis of imazethapyr, imazamox, and imazapyr in the presence of herbicides in preparative forms. The developed technique is an express method of control and provides determination of active substances in the course of one analysis with high accuracy (relative error is less than 5% at  $n = 5$ ,  $P = 0.95$ ). The analytical support of the developed and patented method allows for analytical control of active substances of the imidazolinone class in the formulation of pesticides by analytical and toxicological laboratories, testing services without the use of expensive devices.

#### analytical control, preparative form, thin layer chromatography, imidazolinones

Надійшла: 11.02.2021 p.