

## ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

**Волков Вячеслав Михайлович**

студент заочного отделения

ФГБОУ ВПО «МАМИ»

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены

им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора

**Федосеевский Владимир Викторович**

канд. хим. наук, доцент кафедры «Полимерное машиностроение»

**Иванова Елена Павловна**

канд. техн. наук, доцент кафедры «Полимерное машиностроение»

ФГБОУ ВПО «МАМИ»

г. Москва

### **ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ - КАК МЕТОД АНАЛИТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ НАЛИЧИЯ ПЕСТИЦИДОВ В ВОЗДУХЕ**

***Аннотация:** разработана методика анализа пестицидов на основе сульфонилмочевин в воздушной среде с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии. Определены пределы обнаружения малых концентраций термически нестойких пестицидов в воздухе рабочей зоны и в атмосфере, находящихся в виде аэрозоля.*

Основной тенденцией в системе лабораторного контроля остаточных количеств пестицидов в последние годы является применение современных инструментальных методов, признанных мировым сообществом, что обеспечивает объективность оценки безопасности и качества среды обитания, снижение риска развития экологически обусловленных патологий. Одним из таких методов является хроматография, которая позволяет расширить перечень контролируемых химических показателей и методически обеспечить их регламентирование. Хромато-

графические методы продолжают оставаться основным инструментом аналитической химии пестицидов [1].

С учетом низких уровней гигиенических нормативов особое значение на первом этапе приобретает надежность идентификации вещества. Надежное детектирование остаточных количеств действующих веществ в ходе рутинного анализа наиболее вероятно при применении таких инструментальных методов как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с ультрафиолетовым, флуориметрическим и фото–кондуктивным детекторами, капиллярная газожидкостная хроматографии (ГЖХ), имеющая помимо детекторов широкого спектра идентификации соединений (электронозахватный, пламенно–ионизационный), специфичные – на азот, фосфор и серу.

ВЭЖХ – наиболее интенсивно развивающийся инструментальный вариант хроматографии, используемый для исследования и анализа объектов окружающей среды. К общепризнанным достоинствам ВЭЖХ относятся простота проведения анализа, использование широкого спектра колонок и детекторов, высокая чувствительность и селективность, автоматизация процессов анализа, математическая обработка хроматографических данных [2]. В настоящее время более 60% методов определения пестицидов базируются на методе высокоэффективной жидкостной хроматографии [1]. Преимущества метода: высокая чувствительность и селективность, автоматизация процессов анализа, математическая обработка хроматографических данных. Метод ВЭЖХ продемонстрировал определенные преимущества при совместном определении пестицидов и их метаболитов в одной пробе. Это в особой степени касается тех пестицидов, которые невозможно определять с помощью ГЖХ вследствие их термической нестабильности, высокой полярности и низкой летучести. Использование ВЭЖХ в анализе пестицидов позволяет обойтись без трудоемкой операции получения производных [3]. Все это в большой степени относится к сульфонилмочевинам, для контроля которых, особенно в последние годы, преимущественно используется ВЭЖХ.

Разработка метода измерения концентраций метсульфурон–метила в воздушной среде выполнена на жидкостном хроматографе Waters с использованием хроматографического программного обеспечения Breeze фирмы Waters (США), которое включает управление прибором, регистрацию аналитического сигнала и расчет результатов измерений. Использована стальная колонка (длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм), содержащая Zorbax SB–C8 (зерном 5 мкм), шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 50 – 100 мм<sup>3</sup>.

При выполнении работы использовали следующие реактивы: ацетонитрил хч для хроматографии (ТУ–6–089–14.2167–84), ацетон и вода для ВЭЖХ.

Объектами исследований являлись контрольные и модельные (с внесением препаратов) аналитические пробы, растворы для установления градуировочной характеристики, приготовленные на основе аналитического стандартного образца метсульфурон–метила.

Выполнению измерений предшествуют следующие операции: подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, приготовление растворов для градуировки и внесения, установление градуировочной характеристики, подготовка фильтров для отбора проб, отбор проб.

*Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ.* В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> помещают 550 см<sup>3</sup> бидистиллированной или деионизованной воды, вносят 1,0 см<sup>3</sup> ортофосфорной кислоты, 450 см<sup>3</sup> ацетонитрила, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр и дегазируют.

*Кондиционирование хроматографической колонки.* Промывают колонку подвижной фазой при скорости подачи растворителя 1,0 см<sup>3</sup>/мин до установления стабильной базовой линии.

*Приготовление градуировочных растворов и растворов внесения.* Для приготовления исходного раствора метсульфурон–метила для градуировки (концентрация 100 мкг/см<sup>3</sup>) в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 0,0100 г метсульфурон–метила, растворяют в 50 – 60 см<sup>3</sup> ацетонитрила, доводят ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$  в течение 3–х месяцев.

Растворы № 1–5 готовят объемным методом путем последовательного разбавления исходного раствора для градуировки.

Раствор № 1 метсульфурон–метила для градуировки и внесения (концентрация  $10\text{ мкг/см}^3$ ) – в мерную колбу вместимостью  $100\text{ см}^3$  помещают  $10\text{ см}^3$  исходного раствора метсульфурон–метила с концентрацией  $100\text{ мкг/см}^3$ , разбавляют ацетонитрилом до метки.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$  в течение месяца.

Этот раствор используют для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено–найдено» и контроля качества результатов измерений методом добавок.

*Рабочие растворы № 2 – 5 метсульфурон–метила для градуировки (концентрация  $0,05–0,5\text{ мкг/см}^3$ )* готовят следующим образом: в 4 мерные колбы вместимостью  $100\text{ см}^3$  помещают по  $0,5$ ;  $1,0$ ;  $2,0$  и  $5,0$   $10,0\text{ см}^3$  градуировочного раствора № 1 с концентрацией  $10\text{ мкг/см}^3$ , доводят до метки подвижной фазой, тщательно перемешивают, получают рабочие растворы №№ 2 – 5 с концентрацией  $0,1$ ;  $0,2$ ;  $0,5$  и  $1,0\text{ мкг/см}^3$ , соответственно.

Рабочие растворы сразу после приготовления помещают в холодильник, где хранятся при температуре  $4–6^{\circ}\text{C}$  не более недели.

*Установление градуировочной характеристики.* Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика ( $\text{мкВ}\cdot\text{сек}$ ) от концентрации метсульфурон–метила в растворе ( $\text{мкг/см}^3$ ), устанавливают методом абсолютной калибровки по 4–м растворам для градуировки №№ 2 – 5.

В инжектор хроматографа вводят по  $20\text{ мм}^3$  каждого градуировочного раствора и анализируют в указанных ниже условиях хроматографирования. Осуществляют не менее 5–ти параллельных измерений. Устанавливают площади пиков действующего вещества, на основании которых строят градуировочную зависимость.

Градуировочная характеристика, выражающая линейную (с угловым коэффициентом) зависимость площади хроматографического пика метсульфурон–метила от его концентрации в растворе, построена в диапазоне 0,05 – 0,5 мкг/см<sup>3</sup>, соотношение сигнал–шум на пределе обнаружения 20:1.

*Условия хроматографирования.* Измерения выполняют при следующих режимных параметрах:

- жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны;
- рабочая длина волны: 230 нм или 254 нм, хроматографирование пробы при 2-х длинах волн увеличивает надежность идентификации вещества;
- хроматографическая колонка стальная, длиной 250 мм, внутренним диаметром 4,6 мм, содержащая Zorbax SB–C8, зернением 5 мкм;
- температура колонки: комнатная;
- подвижная фаза: ацетонитрил – вода – ортофосфорная кислота (42:58:0,1, по объему);
- скорость потока элюента: 1,0 см<sup>3</sup>/мин;
- объем вводимой пробы: 20 мм<sup>3</sup>;
- линейный диапазон детектирования: 1 – 10 нг.

*Подготовка фильтров для отбора проб воздуха.* Диаметр бумажного фильтра «синяя лента» должен соответствовать внутреннему диаметру фильтродержателя.

Фильтры последовательно по 3 раза промывают на воронке Бюхнера этанолом, затем ацетонитрилом порциями 25–30 см<sup>3</sup>, сушат с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, затем на воздухе при комнатной температуре. До использования фильтры хранят в герметично закрытой стеклянной таре.

*Отбор проб воздуха.* Отбор проб воздуха рабочей зоны осуществляют в соответствии с требованиями стандартов [4, 5].

Воздух с объемным расходом 2 – 4 дм<sup>3</sup>/мин аспирируют через бумажный фильтр «синяя лента», помещенный в фильтродержатель.

Для измерения концентрации веществ на уровне предела обнаружения (0,25 мг/м<sup>3</sup>) необходимо отобрать 4 дм<sup>3</sup> воздуха. Срок хранения отобранных проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в морозильной камере при температуре –18°С –30 дней.

Отбор проб атмосферного воздуха осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ [6]. Воздух с объемным расходом 5 дм<sup>3</sup>/мин аспирируют через бумажный фильтр «синяя лента», помещенный в фильтродержатель. Для определения вещества на уровне предела обнаружения (0,0016 мг/м<sup>3</sup>) необходимо отобрать 62,5 дм<sup>3</sup> воздуха. Срок хранения отобранных проб, помещенных в полиэтиленовые пакеты, в морозильной камере при температуре –18°С –30 дней.

### *Выполнение измерений*

*Воздух рабочей зоны.* Экспонированный фильтр «синяя лента» переносят в химический стакан вместимостью 150 см<sup>3</sup>, заливают 20 см<sup>3</sup> этанола, помещают на встряхиватель на 10 минут. Растворитель сливают, фильтр еще дважды обрабатывают новыми порциями этанола объемом 15 см<sup>3</sup>, выдерживая на встряхивателе по 10 минут. Объединенный экстракт переносят (через воронку) в мерный цилиндр с пришлифованной пробкой вместимостью 50 см<sup>3</sup>, доводят объем до метки этанолом, перемешивают.

Аликвоту раствора объемом 5 см<sup>3</sup> (1/10 часть экстракта) переносят с помощью пипетки в круглодонную колбу на 50 см<sup>3</sup>, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35°С почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха. Остаток растворяют в 2 см<sup>3</sup> подвижной фазы, тщательно перемешивают и анализируют при указанных выше условиях хроматографирования.

*Атмосферный воздух.* Экспонированный фильтр «синяя лента» переносят в химический стакан вместимостью 150 см<sup>3</sup>, заливают 20 см<sup>3</sup> этанола, помещают на встряхиватель на 10 минут. Растворитель сливают, фильтр еще дважды обрабатывают новыми порциями этанола объемом 20 см<sup>3</sup>, выдерживая на встряхивателе по 10 минут. Объединенный экстракт переносят (через воронку) в кругло-

донную колбу, упаривают на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани не выше 35°C почти досуха, оставшийся растворитель отдувают потоком теплого воздуха. Остаток растворяют в 2 см<sup>3</sup> подвижной фазы, тщательно перемешивают и анализируют на содержание метсульфурон–метила.

Пробу вводят в инжектор хроматографа не менее двух раз. Устанавливают площади пиков веществ, с помощью градуировочных графиков определяют концентрацию в хроматографируемом растворе.

Процедура подготовки модельных проб воздушной среды (фильтр «синяя лента») для характеристики полноты извлечения вещества методом «внесено–найдено» включала стадии:

- приготовление необходимого количества фильтров «синяя лента» диаметром 48–50 мм, соответствующим диаметру фильтродержателя;
- промывка фильтров последовательно по 3 раза на воронке Бюхнера этанолом, затем ацетонитрилом порциями 25–30 см<sup>3</sup>;
- сушка с помощью разряжения, создаваемого водоструйным насосом, затем на воздухе при комнатной температуре (хранение фильтров до использования осуществляется в герметично закрытой стеклянной таре);
- нанесение действующего вещества на фильтры в количестве 0,1; 0,2; 0,5 и 1,0 мкг;
- просушивание фильтров в течение 5–7 мин на воздухе;
- экстракция.

В качестве экстрагента для извлечения метсульфурон–метила с экспонированных фильтров на основе структуры вещества, параметра растворимости апробирован этанол. Показано, что при использовании его в качестве экстрагента достигается эффективное извлечение вещества с фильтров. Полнота экстракции метсульфурон–метила находится в диапазоне 82,7 – 91,6%, средняя – 86,9%.

*Измерения концентраций метсульфурон–метила методом ВЭЖХ в воздушной среде*

Цель исследований включает разработку аналитического метода измерения

концентраций метсульфурон–метила в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест, который обеспечивал бы контроль в воздушной среде установленных гигиенических нормативов (ПДК в воздухе рабочей зоны – 5,0 мг/м<sup>3</sup>, в атмосферном воздухе – 0,02 мг/м<sup>3</sup> [7] и отвечал требованиям ГОСТов [4, 6, 8, 9].

Методические разработки по созданию нового способа включали:

- оценку агрегатного состояния вещества в воздушной среде;
- аналитическое обоснование условий отбора проб воздуха;
- изучение хроматографического поведения вещества в серии экспериментов по аналитическому выбору обращенной фазы для ВЭЖХ, длины волны ультрафиолетового детектора, подбору оптимального состава элюента;
- установление линейного диапазона детектирования, градуировочной характеристики;
- подбор условий экстракции вещества с фильтров;
- подготовку модельных образцов объектов контроля с использованием пробоотборной системы, состоящей из бумажного фильтра «синяя лента», помещенного в фильтродержатель;
- установление достоверной полноты извлечения из аналитических образцов методом «внесено – найдено» в 4–х сериях при 5–ти повторностях эксперимента;
- оценку срока возможного хранения экспонированных воздушных проб;
- выполнение измерений;
- математико–статистическую обработку данных по показателям правильности, точности и прецизионности для метрологической аттестации МВИ.

Для теоретического расчета летучести (L) предложена формула [10]:

$$L = 16 \cdot P \cdot M / (273 + t), \text{ где}$$

L – летучесть вещества, мг/м<sup>3</sup>;

P – давление насыщенного пара при данной температуре, мм рт. ст.;

M – молекулярная масса вещества;

t – температура, °C.



Расчетными методами, исходя из давления паров метсульфурон–метила  $1,1 \cdot 10^{-7}$  мПа (при  $25^{\circ}\text{C}$ ), ПДК вещества в воздушной среде ( $5,0 \text{ мг/м}^3$  в воздухе рабочей зоны и  $0,005 \text{ мг/м}^3$  в атмосферном воздухе), молекулярной массы (381,4), установлены особенности агрегатного состояния вещества в воздухе. Возможная концентрация парообразной фракции вещества в воздухе, обусловленная естественной летучестью соединения, составляет  $1,8 \cdot 10^{-7} \text{ мг/м}^3$ , что позволяет сделать заключение о гигиенической и экологической значимости его присутствия в воздухе в виде аэрозоля.

Для улавливания из воздуха высокодисперсных аэрозолей и твердых частиц применяют различные фильтрующие материалы. С учетом опыта по разработке методов измерения концентраций веществ класса сульфонилмочевин, в качестве фильтрующего материала для концентрирования метсульфурон–метила из воздушной среды были избраны бумажные фильтры «синяя лента».

Показано, что использование пробоотборной системы, состоящей из фильтра «синяя лента», помещенного в фильтродержатель, обеспечивает эффективный отбор вещества из воздуха рабочей зоны (атмосферного воздуха) с достаточной полнотой сорбции и приемлемым проскоком при аспирации воздуха.

Схема основных этапов анализа проб воздуха для измерения уровней метсульфурон–метила приведена на рис. 1.

Таким образом, результатом аналитических исследований является метод измерения концентраций метсульфурон–метила в воздушной среде с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с применением ультрафиолетового детектора, включающий отбор проб воздуха рабочей зоны на бумажный фильтр «синяя лента», экстракцию этиловым спиртом, концентрирование, количественный хроматографический анализ

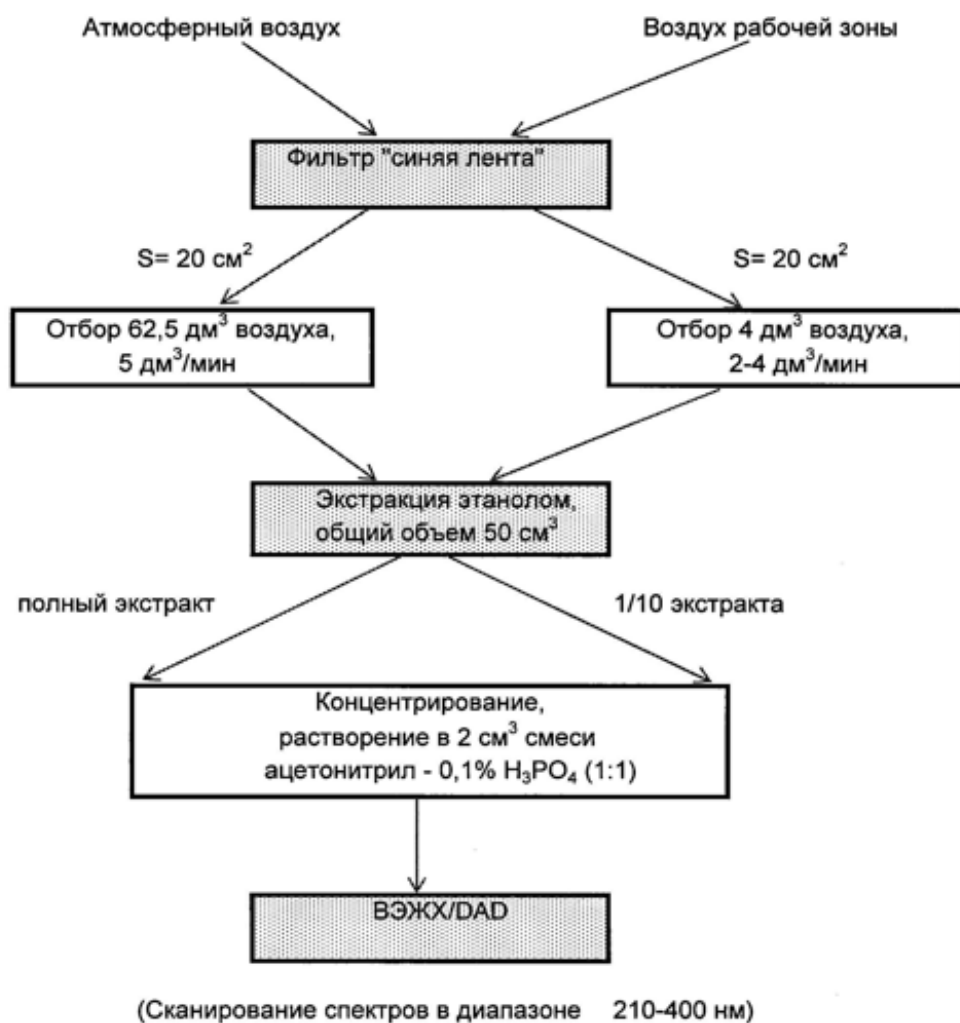


Рис. 1. Схема основных этапов анализа проб воздуха (измерение концентраций метсульфурон–метила)

### Выводы

1. Разработан метод анализа пестицидов в воздухе с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии.
2. Показано, что в качестве жидкостного хроматографа применен «Waters» с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны и колонкой, содержащей Zorbax SB–C8 (5 мкм). Элюент – ацетонитрил– вода– ортофосфорная кислота.
3. Установлено, что выполнению анализа предшествуют следующие операции: подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматогра-

фической колонки, приготовление растворов для градуировки и внесения, установление градуировочной характеристики, подготовка фильтров для отбора проб, отбор проб.

4. Показано, что анализ пестицидов на основе сульфанилмочевин (метсульфурон–метила) в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе определил следующие пределы обнаружения:

- воздух рабочей зоны –  $0,25 \text{ мг/м}^3$  (при отборе  $5 \text{ дм}^3$  воздуха);
- атмосферный воздух –  $0,0016 \text{ мг/м}^3$  (при отборе  $62,5 \text{ дм}^3$  воздуха).

В соответствии с метрологической оценкой метода суммарная погрешность измерения в воздушной среде составляет  $\pm 20,6\%$ , т.е. не превышает 25%, что соответствует требованиям ГОСТа 12.1.005–88 [4].

### *Список литературы*

1. Лунев М.И. Мониторинг пестицидов в окружающей среде и продуктах: эколого–токсикологические и аналитические аспекты/Рос.хим. журнал (Ж. Рос. хим. об–ва им. Д.И. Менделеева), т. XLIX, №3.–2005.–с. 64–70.
2. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В. и др. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. М., Изд–во «Водолей», 2004. – 528 с.
3. Шаповалова Е.Н., Пирогов А.В. Хроматографические методы анализа. Методическое пособие для специального курса. М.: изд–во МГУ, 2007. – 109 с.
4. ГОСТ 12.1.005–88 «ССБТ. Общие санитарно–гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».
5. Руководство Р 2.2.2006–05 (приложение 9, обязательное) «Общие методические требования к организации и проведению контроля содержания вредных веществ в воздухе рабочей зоны», пункт 2 «Контроль соответствия максимальным ПДК».
6. ГОСТ 17.2.4.02–81 «ОПА. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ в воздухе населенных мест».
7. The Pesticide Manual. 14th Edition, 2006. – 1350 P.
8. ГОСТ ИСО 5725 – 1–6.2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

9. ГОСТ 12.1.016–79 «ССБТ. Воздух рабочей зоны. Требования к методикам измерения концентраций вредных веществ».

10. ГН 1.2. 3111–13 "Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды".