

УДК 632.95.002:543

Т.А. Жадан¹, О.А. Шевцова², А.В. Гайнутдинов¹¹Национальный технический университет «ХПИ», Харьков²Национальный аграрный университет, Харьков

ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ АНАЛИЗА ПЕСТИЦИДОВ

В работе рассматриваются проблемы мониторинга пестицидов в объектах окружающей среды, а также физико-химические и биологические методы анализа. Аналитические данные обобщаются, указываются достоинства и недостатки каждого метода. Анализируются наиболее перспективные методы мониторинга пестицидов, а именно: газожидкостная хроматография (ГЖХ), тонкослойная хроматография (ТСХ), иммуноферментный анализ (ИФА). Приведены наиболее интересные методики анализа. В статье дается оценка возможностей различных методов, в том числе и биологического, и наиболее перспективные из них рекомендованы для использования службами массового контроля пестицидов.

Ключевые слова: мониторинг пестицидов, газожидкостная хроматография, тонкослойная хроматография, иммуноферментный анализ, биосенсор, твердофазная экстракция, фитотоксичность, биоиндикация.

Постановка проблемы

Проблема негативного воздействия пестицидов на окружающую среду и человека является одной из глобальных экологических проблем, возникающих в процессе сельскохозяйственного производства. Воздействию подвергаются прежде всего почва, растительный покров, наземная и почвенная биота, водные объекты, в том числе и грунтовая вода. Важным инструментом в предотвращении или минимизации негативных последствий применения и миграции пестицидов является мониторинг их токсических остатков в объектах окружающей среды, растениях кормах, продуктах питания.

Мониторинг пестицидов включает систему наблюдений, оценку и прогноз уровней загрязнения пестицидами а также последующую разработку мероприятий по оздоровлению природной среды.

Методы решения проблемы

Для решения задач мониторинга применяется процедура определения содержания остатков пестицидов в контролируемых объектах и средах [1, 2]. В ряде случаев альтернативой такому определению является установление степени воздействия токсических компонентов на некую тест-систему. Иными словами, в процессе контроля определяется количество, либо масса токсиканта (в виде концентрации), или проявление его биоактивности. Для определения первого показателя используют, как правило, физико-химические методы, второго – биологические.

Определение содержания остаточных количеств пестицидов является сложной аналитической задачей, которая усугубляется низкими уровнями содержания токсикантов и их сложным взаимодействием с матрицей объектов.

Для массового контроля пестицидов наиболее широко из физико-химических методов используются хроматографические [3, 4].

Широкое распространение получил метод газожидкостной хроматографии (ГЖК) [5, 6]. Для проведения определений остаточных количеств пестицидов методом ГЖК используют традиционные приемы пробоподготовки и идентификации веществ. Повысить эффективность метода газожидкостной хроматографии (ГЖК) можно либо:

- а) усовершенствованием хроматографической аппаратуры;
- б) внедрением современных приемов пробоподготовки.

Хорошие результаты дает использование твердофазной экстракции (ТФЭ) и микроэкстракции, новых вариантов жидкостно-жидкостной экстракции: сверхкритической флюидной экстракции (СФЭ), экстракции водой в субкритическом состоянии, экстракции в микроволновом поле.

Авторами [10] предложена методика одновременного анализа атразина и метолахлора в почве и воде с использованием концентрирующих патронов Диапак. Это позволило снизить предел детектирования в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с УФ-детектором до 0,001 мг/мл, в газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с термоионным детектором до $5 \cdot 10^{-4}$ мг/мл. Коэффициент концентрирования равен 50 для метода ВЭЖХ и 500 – для метода ГЖХ.

Применение твердофазной экстракции (ТФЭ) позволило провести газохроматографическое определение остаточных количеств 24 пестицидов в пробах овощей и фруктов, степень извлечения токсикантов при этом превышала 70% [7].

На примере ГХЦГ, ДДЭ и дильдрина проведено сопоставление 3 способов жидкостной экстракции из твердых матриц методом Сокслета, с ультразвуковым и микроволновым разложением. Эффективность экстракции зависит от типа матрицы и определяемого пестицида. Использование микроволновой экстракции повышает степень извлечения

пестицидов. Наименее эффективным оказался метод ультразвуковой обработки проб [11].

При использовании сверхкритической флюидной экстракции (СФЭ) разработаны методики определения в водных образцах хлор-, фосфор-, азотсодержащих пестицидов. Методики обеспечивают надежное и высокочувствительное определение контролируемых веществ с высокой производительностью (время анализа – 45 мин), максимальная относительная погрешность – 27% [12].

Преимуществами метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) по сравнению с другими хроматографическими методами является простота техники работы, низкая стоимость и доступность оборудования [13].

Метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) позволяет работать с пробами, имеющими минимальный уровень предварительной очистки, и определять анализируемые вещества, оставляя мешающие компоненты на старте хроматограмм или перемещая их с фронтом растворителя. В то же время, этот метод может использоваться как вспомогательный для очистки экстрактов из анализируемых проб для проведения ГЖХ- и ВЭЖХ-определений пестицидов [4].

Развитие метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) привело к появлению высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ). В основе усовершенствованного метода лежит использование современных хроматографических материалов, устройств для точного нанесения проб на пластину, новых развивающихся камер (в том числе под давлением) и инструментального детектирования количества вещества.

Метод ВЭЖХ пока получил меньшее распространение, чем ГЖХ и ТСХ. Высокоэффективная жидкостная хроматография используется в основном для анализа нелетучих и термически неустойчивых соединений, в частности, гербицидов на основе фенилмочевины и сульфонилмочевины, карбаматных пестицидов [14].

Метод ВЭЖХ в последние годы по праву считается одним из наиболее важных в аналитической химии следовых количеств пестицидов. Для обнаружения анализируемых компонентов в ВЭЖХ широко применяются устройства, работа которых основана на измерении поглощения в ультрафиолетовой области, флуоресценции или электрохимических характеристик. Возможно также сочетание жидкостного хроматографа с масс-спектрометром [15]. С появлением ультрафиолетовых детекторов на диодной матрице ВЭЖХ стала стандартным методом контроля качества природной и питьевой воды на содержание пестицидов [16, 17].

Методика твердофазной экстракции (ТФЭ) с последующим определением гербицидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) позволяет определять в воде одновременно 9 гербицидов на основе феноксикислот (2,4-Д, дикамба, бентазон, и др.) с пределом обнаружения 20 нг/л

при стандартном отклонении. Эта же методика применяется также для анализа почвенных и поверхностных вод с большим содержанием гуминовых кислот.

В отличие от детектора на диодной матрице принцип действия флуоресцентного детектора (ФЛД) основан на измерении не поглощения, а испускания света. Большая популярность флуоресцентного детектора в ВЭЖХ объясняется его высокой селективностью и чувствительностью [18].

Методы электроаналитической химии (вольтамперометрия) ограничено применяются при контроле содержания пестицидов в природной среде из-за исключительно низких концентраций и электрохимической инертности в доступной области потенциалов. В этом случае используют предварительное концентрирование микрокомпонентов на поверхности электрода, что позволяет определять некоторые пестициды на уровне 10^{-8} – 10^{-6} моль/л с погрешностью 6 – 10% [19].

Широкому внедрению метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в практику массовых анализов мешает высокая стоимость приборов и расходных материалов.

К недостаткам хроматографических методов анализа можно отнести необходимость тщательной очистки экстрактов, содержащих определенный пестицид, длительность анализа, не всегда удовлетворительную избирательность и чувствительность, а также дорогостоящее оборудование.

Метод иммуноферментного анализа (ИФА), соединяющий преимущества физико-химического и биологического подходов, основан на способности животных продуцировать высокоспецифичные антитела к инородным веществам. Высокочувствительный, специфичный и экспрессный метод ИФА (или ELISA) используется для определения остаточных количеств широкого круга пестицидов и регуляторов роста растений, включая хлорсульфурон и некоторые другие малодозовые гербициды сульфонилмочевинового ряда. Он позволяет, в частности, достаточно быстро определять нанограммовые количества хлорсульфурана в неочищенных экстрактах из почв [21].

Описаны многочисленные конструкции холинэстеразных биосенсоров. В частности, интерес представляет потенциометрическая система на основе двух платиновых электродов. Измеряемой величиной является потенциал одного из электродов, который служит анодом. При введении в раствор пробы, содержащей холинэстеразу, потенциал анода понижается, причем скорость его изменения зависит от концентрации фосфорорганических веществ (ситокс, паратион и др.) в растворе. Пределы обнаружения: для ситокса – 0,01 и для паратиона – 0,18 мкг/мл. Метод отличается простотой и высокой точностью. На его основе в США выпускались анализаторы воды [22].

Рн-электрод с иммобилизированной холинэстеразой применяется в системах автоматического контроля качества речной воды во Франции [23].

Датчик позволяет определять 3 10⁻⁷% этилпараоксона, 5 10⁻⁷% метилпараоксона, 4 10⁻⁷% малатиона. Указанный электрод определяет токсичное действие примесей, содержащихся в воде (антихолинэстеразная токсичность).

Интерес представляет сравнение основных характеристик методов определения фосфорорганических пестицидов (табл. 1), из которого можно сделать вывод о высокой эффективности применения биосенсоров на основе иммобилизованной холинэстеразы.

Таблица 1

Нижняя граница определяемых содержаний фосфорорганических пестицидов, достигнутая различными методами

Определяемое соединение	Метод определения	Нижняя граница определяемых содержаний
Дихлофос, хлорофос, трихлорметафос	Газовая хроматография	0,001 – 0,01 мг/л; 0,01 мг/кг
Хлорофос, меназон, метилнитрофос	Тонкослойная хроматография	0,005 мг/л; 0,1 мг/кг
Бензофосфат, бутифос, метафос, фталофос	Спектрофотометрия	0,1 – 10 мг/л; 0,2 мг/кг
Фталофос, фозалон, метилнитрофос	Вольтамперометрия	20 мг/л; 0,01 – 0,1 мг/л
Дихлофос, хлорофос, метафос, трихлорметафос	Биологический (с дафниями)	0,0001 – 0,001 мг/л; 0,005 мг/кг
Хлорофос, глифисат, фозалон, фталофос, паратион	Биосенсоры на основе холинэстеразы	10 ⁻⁴ – 10 ⁻⁸ мг/л

Следует отметить, что ряд вопросов практического применения биосенсоров для мониторинга пестицидов еще не решен и требует дальнейших исследований. Перспективным представляется сочетание проточно-инжекционного анализа с биосенсорами для автоматизации и ускорения определений токсикантов.

Принципы иммунохимических методов анализа описаны в ряде монографий и обзоров [24 – 26, 31]. В частности, они нашли применение для скрининга хлорсодержащих пестицидов в объектах окружающей среды, сточных водах, отходах производства. Так, с помощью иммунохимических методов можно оценить общее содержание полихлорированных диоксинов в пробах воды за 1 час.

Результаты применения иммунохимических методов анализа в определении следовых количеств токсикантов показывают, что эти методы более производительные, чем инструментальные (в 10 раз и более). Стоимость оборудования и реактивов, особенно для ИФА, также значительно ниже. В табл.2 приведены примеры использования иммунохимических методов

для определения некоторых пестицидов.

Таблица 2

Характеристики иммунохимических методов определения пестицидов и их метаболитов

Пестицид	Метод	Предел обнаруж., нг/мл	Объект анализа
ДДТ	РИА	3,5	Ткани животных
2,4-Д	ИФА	5 – 15	Вода
Дильдрин	РИА	0,2	Вода
Карбофос	ИФА	15	Вода
Паратион	РИА	10	Вода
2,3,7,8-ТХДФ	РИА	20	Вода

Разрабатываются также различные модификации ИФА. Для количественного определения остаточного содержания гербицида пропанила разработан и оптимизирован метод поляризационного флуороиммуноанализа. Количество определяемого соединения обратно пропорционально регистрируемой поляризации флуоресценции меченого иммунокомплекса. Предел обнаружения метода – 1 нг/мл пропанила в 50 мкл образца, диапазон измеряемых концентраций 1 – 1000 нг/мл, время анализа – менее 1 минуты [27].

Обработка данных о содержании в почвах Австралии остаточных количеств ДДТ и ДДЭ, полученных с помощью ИФА, позволила получить достоверную картину загрязнения почв этими токсикантами спустя почти 20 лет после последних обработок хлопчатника препаратом ДДТ [28]. Биологический метод наиболее часто используется для индикации остатков гербицидов в почве. В основу этого метода положена фитотоксичность действующих веществ (д.в.) гербицидных препаратов. В качестве тест-растений используют различные культуры, например, овес – при определении сим-триазиновых гербицидов, подсолнечник – для обнаружения пиклорама. Регистрируемым показателем являются, как правило, масса растения или длина корешков [32].

Пока не существует надежных инструментальных методов, которые позволяли бы определять суммарную фитотоксичность почвы при совместном присутствии в ней гербицидов. Единственным методом, который может быть использован для этих целей, является биоиндикация [28].

Биологический метод индикации остаточных количеств имазамокса (д.в. гербицидного препарата пульсар) с использованием различных тест-растений позволяет контролировать содержание остатков гербицида и его фитотоксичность с высокой чувствительностью – от 0,08 до 16,6 мкг/кг почвы [30].

В ряде случаев при проведении мониторинга пестицидов необходимо определять не только их конкретное содержание, но и некие интегральные показатели их негативного воздействия на био- и экосистемы. Для определения общей токсичности воды, например, используются методы биотестирования на водорослях, бактериях, рыбах [8]. Для интегральной оценки качества воды в связи с возможным негативным воздействием пестицидов был использован метод биотестирования, основанный на подавлении роста

пыльцы растений под действием токсикантов [9].

Выводы

Необходимо правильно оценить возможности различных аналитических методов, том числе и биологических, и рекомендовать для служб массового контроля наиболее приемлемые из них, не только с точки зрения аналитических параметров, но и с точки зрения их доступности и обеспеченности приборами, оборудованием и реактивами.

Совершенствование методологии работ по мониторингу пестицидов и методов анализа их микроколичеств позволяет решать задачу по минимизации воздействия этого достаточно распространенного класса токсикантов на окружающую среду и человека, поддерживая и углубляя при этом положительный хозяйственный эффект химической защиты растений.

Список литературы

1. Другов Ю.С., Родин А.А. Мониторинг органических загрязнений природной среды: Практическое руководство. – С.-Пб.: Наука, 2004. – 808 с.
2. Майстренко В.Н., Хамитов Р.З., Будников Г.К. Эколого-аналитический мониторинг супертоксикантов. – М.: Химия, 1996. – 319 с.
3. Контроль химических и биологических параметров окружающей среды / Под ред. Л.К. Исаева. – С.-Пб.: Союз, 1998. – 896 с.
4. Хроматография: практическое приложение метода. В 2-х ч. Ч. 2 / Пер. с англ.; Под ред. Э. Хофтмана. – М.: Мир, 1986. – 277 с.
5. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах, и внешней среде. В 2-х т. / Под ред. М.А. Клищенко. – М.: Агропромиздат, 1992. – 413 с.
6. Другов Ю.С., Зенкевич И.Г., Родин А.А. Газохроматографическая идентификация загрязнений воздуха, воды, почвы и биосред: Практическое руководство. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2005. – 752 с.
7. Adou K., Bonhuan W.R., Sweeny P.J. *J Agric. Food Chem.* – 2001. – V. 49, 9. – P. 4153-4160.
8. Никаноров А.М., Хоружая Т.А., Бражникова Л.В. Мониторинг качества вод: оценка токсичности. – С.-Пб.: Гидрометеиздат, 2000. – 160 с.
9. Хорхе Р.Д., Филина О.Н., Клюев Н.А., Курапов П.Б. // Сб. Влияние физических и химических факторов на рост и развитие с/х культур. – Орехово-Зуево. – 1996. – С. 23.
10. Ларина Г.Е., Бондарева Т.А., Андриевский Е.И. // *Агрехимия.* – 1997. – № 6. – С. 71-76.
11. Сангхи Р., Каннакумурутх С.С. // *Журнал аналит. химии.* – 2004. – Т. 59, № 11. – С. 1145-1149.

ПРОБЛЕМИ ТА МЕТОДИ АНАЛІЗУ ПЕСТИЦИДІВ

Т.О. Жадан, О.О. Шевцова, А.В. Гайнутдінов

У роботі розглянуті проблеми моніторингу пестицидів у об'єктах навколишнього середовища а також фізико-хімічні і біологічні методи аналізу. Аналітичні дані узагальнюються; вказуються переваги і недоліки кожного з методів. Аналізуються найбільш перспективні методи моніторингу пестицидів, а саме: газорідинна хроматографія, тонкошарова хроматографія, імуноферментний аналіз. Приведено найбільш цікаві методики аналізу. Надается оцінка можливостей різних методів, у том числі біологічного, та найбільш перспективні з них рекомендовано для використання службами масового контролю пестицидів.

Ключові слова: моніторинг пестицидів, газорідинна хроматографія, тонкошарова хроматографія, імуноферментний аналіз, біосенсор, твердофазна екстракція, фітотоксичність, біоіндикація.

PROBLEMS AND METHODS OF ANALYSIS OF PESTICIDES

T.A. Zhadan, O.A. Shevtsova, A.V. Gaynutdinov

This work devoted to the problem of monitoring of pesticides in the objects of environment. The physical, chemical and biological methods of analysis are examined. Analytical information is summarized, and also dignities and lacks of every method are indicated. The most perspective methods of monitoring of pesticides are analysed, namely: gas-liquid sorptography, thin-layer sorptography, immuneferment analysis. The most interesting methods of analysis are also resulted. Estimation of possibilities of different methods is given in the article, including biological, and the most perspective from them are recommended for the use by services of mass control of pesticides.

Keywords: monitoring of pesticides, gas-liquid sorptography, thin-layer sorptography, immune-ferment analysis, touchcontrol, solid-phase extraction, phytotoxicity, bioindication.

12. Глазков И.Н., Ревенский И.А., Кузякин С.В. // *Журнал аналит. химии.* – 2004. – Т. 59, №11. – С. 1200-1205.

13. Кретова Л.Г., Лунев Л.И. Тонкослойная хроматография: определение остаточных количеств пестицидов и микотоксинов: Методическое пособие.– М.: Агроконсалт, 2004. – 100 с.

14. Мирошинченко И.И., Кретова Л.Г. // *Агрехимия.* – 1992. – № 1. – С. 169-176.

15. Хмельницкий Р.А., Бродський Е.С. Масс-спектрометрия загрязнений окружающей среды. – М.: Химия, 1990. – 184 с.

16. Сониясси Р., Сандра П., Шлете К. Анализ воды: органические микропримеси. – С.-Пб.: ТЕЗА, 1995. – 248 с.

17. Schuster R., Gratzfeld-Husgen A. // *HP Appl. Note.* – 1990. – N 12. – P. 5091-0302.

18. Huber L., Glatz B., Gratzfeld-Husgen A. // *Ibid.* – 1987. – N 12. – P. 5954-6281.

19. Dong M.W., Greenberg A. // *J. Lig. Chromatog.* – 1988. – V. 11, N 9|10. – P. 1987-1995.

20. Kalvoda R. *Electrochemical detectors. Fundamentall aspects and analytical applications.* // Ed. Ryan T.H. N-Y Plenum Press. – 1984. – Н. 133-168.

21. Жемчужин С.Г., Горобец Р.П. // *Агрехимия.* – 1990. – № 1. – С. 149-155.

22. Никольская Е.Б., Евтюгин Г.А. // *Журн. аналит. химии.* – 1992. – Т. 47, № 8. – С. 1358-1377.

23. El Eamani, Abdul M., Dupont M. // *Technol. Chim.* – 1988. – V. 8, N 4. – P. 112-115.

24. Биосенсоры. Основы и приложения / Под ред. Э. Тернер. – М.: Мир, 1992. – 614 с.

25. Теория и практика иммуно-ферментного анализа / Под ред. А.М. Егорова. – М.: Высшая школа, 1991. – 288 с.

26. Будников Г.К., Медянцева Э.П., Бабкина С.С. // *Успехи химии.* – 1991. – Т. 60, № 214. – С. 880-904.

27. Краснова А.И., Рыжова В.В., Буркин А.А., Еремин С.А. // *Агрехимия.* – 2001. – № 4. – С. 76-80.

28. Пронина Н.Б. Эколого-физиологические аспекты действия гербицидов в агрофитоценозах. – М.: МСХА, 1996. – 242 с.

29. Shivaramaiah H.M., Oden I.O., Kennedy I.R. // *J. Agric. Food. Chem.* – 2002. – V. 50, 19. – P. 53.

30. Ларина Г.Е., Спиридонов Ю.Я., Захаров С.А. // *Агрехимия.* – 2001. – № 4. – С. 67-75.

31. Волков С.К. // *Успехи химии.* – 1993. – Т 62, № 8. – С. 831-854.

32. Кудряшова С.Я. Контролируемые показатели почвенно-экологического мониторинга. – Новосибирск: НГТУ, 2003. – 46 с.

Поступила в редколлегию 2.07.2008

Рецензент: д-р биолог. наук, проф. В.Д. Зинченко, Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков.