

## **HPLC МЕТОДИ ЗА КВАНТИТАТИВНО ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА АКТИВНАТА КОМПОНЕНТА ДАЗОМЕТ ВО ПЕСТИЦИДНАТА ФОРМУЛАЦИЈА BASAMID GRANULAT**

Биљана Петановска - Илиевска \*

Универзитет Св Кирил и Методиј, Факултет за земјоделски науки и храна,  
1000 Скопје, Р. Македонија  
e-mail bpetan88@yahoo.com

### **Апстракт**

Во трудот се презентирани три методи за квантитативно определување на дазомет во пестицидната формулација Basamid Granulat, од коишто две се за реверзно-фазна течна хроматографијана, а една за нормално-фазна течна хроматографија. Методите во коишто се користи реверзно-фазниот режим на хроматографирање се изведени на колоните HS 3x3 C 8 (3,3 x 0,46 cm), и LiChrosorb RP 8, (25 x 0,4 cm). За разработка на методот за квантитативно определување на дазомет со нормално-фазен режим на хроматографирање, користени се колоните од типот LiChrosorb CN (25 x 0,4 cm), HS Pecosphere Silica 3 x 3 (3,3 x 0,46 cm) и LiChrosorb (Si 60 25 x 0,4 cm). За верификација на разработените методи извршена е проценка на долната граница на детекција, типот на зависност помеѓу масата и површината или височината на хроматографските пикови за испитуваниот аналит, интермедијарната прецизност на добиените резултати за ретенционото време и површината на пикот, аналитичкиот принос и уделот на активната компонента во анализираните примероци од пестицидните формулации. Употребените колони од типот HS за квантитативно определување на дазомет со помош на реверзно-фазна течна хроматографија се: ефикасни, прецизни, економични и дозволуваат употреба на мобилна фаза со мал удел на органска компонента. Вредноста за долната граница на детекција за дазомет е најниска кај разработените методи во коишто се користени колоните од типот HS 3 x 3 C 8 изнесува 748,8 pg за дазомет.

**Клучни зборови:** дазомет, HPLC методи

## **HPLC METHODS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF DAZOMET IN PESTICIDE FORMULATION BASAMID GRANULAT**

Biljana Petanovska-Ilievska

Faculty of Agricultural Sciences and food, "Ss. Cyril and Methodius" University, Skopje, Republic of  
Macedonia  
e-mail bpetan88@yahoo.com

### **Abstract**

For quantitative determination of dazomet in pesticide formulation Basamid Granulat, three HPLC methods are presented. Two methods are for reverse-phase liquid chromatography, and one for normal-phase liquid chromatography. The methods for reverse-phase determination of dazomet were performed on HS 3 x 3 C 8 (3,3 x 0,46 cm), LiChrosorb RP 8, (25 x 0,4 cm). For quantitative determination of dazomet with normal-phase liquid chromatography, LiChrosorb CN (25 x 0,4 cm), HS Pecosphere Silica 3 x 3 (3,3 x 0,46 cm) and LiChrosorb (Si 60 25 x 0,4 cm), columns were used. For validation of all develop methods, the evaluation is performed for: limit of detection, the linearity between the mass of analyte and peak area or peak height, intermediate precision of obtained results for retention time and peak area, percentage of recovered analyte and active ingredient quantity in pesticide formulation samples. The HS column type for quantitative determination of dazomet with reverse-phase liquid chromatography has some advantages: efficiency, precise, economic, and consists of small part of organic modifier in the mobile phase. The best value for limit of detection for dazomet 748,8 pg, was obtained on column type HS 3 x 3 C 8.

**Key words:** dazomet, HPLC methods

## Вовед

Дазомет (tetrahydro -3,5-dimethyl -1,3,5-thiadiazine -2- thione,) припаѓа во групата на нематодите, фунгицидите, хербицидите и инсектицидите. Примената на овој пестицид се базира на широкиот спектар на неговите активности. Имено, се користи како почвен фумигант којшто во присуство на влага се разградува до метил дитиокарбаминска киселина, којашто претрпува понатамошна деградација до метил изотиоцијанат, формалдехид, хидроген сулфид и метиламин (Tomlin C., 1997). Дазомет ги контролира почвените габи (*Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia* и *Verticillium spp. Colletotrichum coccodes (atramentarium)*), нематодите, ртењето на семето од коровите и почвените инсекти. Исто така се користи како слимицид при производство на хартија, а и како заштитно средство во адхезиви и лепила.

Декларираното количество на дазомет во формулацијата Basamid Granulat е  $98 \% \pm 4$ , а главните метаболити на активната компонента се трите дехидро-димерни форми: I а, I б и I в чии имиња се:

I а- 5,5'-ethylenedi[tetrahydro-3-methyl-1,3,5-thiadiazine-2-thione],

I б- 3,5'-ethylenedi[tetrahydro-3-methyl-1,3,5-thiadiazine-2-thione],

I в- 3,3'-ethylenedi[tetrahydro-3-methyl-1,3,5-thiadiazine-2-thione].

Според стандардниот СРАС метод (1984), определувањето на дазомет се спроведува со помош на кисела хидролиза на препаратот до јаглород (IV) сулфид и негова апсорпција во метанолен КОН. Апсорбируваниот јаглород (IV) сулфид потоа квантитативно се определува со помош на јодометриска титрација. Очигледно е дека, доколку се присутни метаболитите на дазомет во препаратот, добиениот резултат ќе биде сума од уделот на дазомет и неговите дехидро-димерни форми.

За квантитативно определување на дазомет со помош на високо ефикасната течна хроматографија во формулацијата Basamid Granulat се публикувани два труда во часописи со фактор на влијание од В. Petanovska-Ilievska (2001) и В. R. Petanovska-Ilievska и L. B. Vodeb, (2002).

Од овие причини цел на овој труд е да ги презентира објавените методи за

квантитативно определување на дазомет во пестицидната формулација Basamid Granulat со помош на HPLC со UV детекција.

## Експериментален дел

**2.1. Реагенси:** За подготовка на мобилните фази, користени се: вода, метанол, ацетонитрил, дихлорметан и n-хексан, со HPLC чистота, производство на Sigma-Aldrich- Deisenhofen, Germany. За определување на мртвото време на колоната е употребен  $\text{KNO}_3$ , произведен од Алкалоид - Р. Македонија.

Анали-тичкиот стандард од дазомет и неговите метаболити се подарок од BASF (Germany), а се добиени преку генералниот застапник за Р. Македонија - Хемомак.

**HPLC анализи:** За разработка на хроматографските методи за квантитативно определување на дазомет се користени различни типови на аналитички колони со различни димензии меѓу кои спаѓаат и брзите колони (HS-high speed) од типот: HS 3 x 3 C 8; и HS Pecosphere 3 x 3 Silica, со димензии 3,3 x 0,46 cm ( $5\mu\text{m}$ , Perkin Elmer). Покрај овие колони, користени се и долги колони од типот: LiChrosorb RP 8, со димензии 25 x 0,4 cm ( $5\mu\text{m}$ ), LiChrosorb CN 25 x 0,4 cm ( $5\mu\text{m}$ ) и LiChrosorb Si 60 25 x 0,4 cm ( $5\mu\text{m}$ ) произведени од Merck (Darmstadt, Germany).

Експериментите се изведени на HPLC произведен од Perkin Elmer со бинарна пумпа (модел LC 250) и UV Diode Array Detector (модел LC 235). Хроматограмите се интегрирани на дијаграми со брзина од 10 mm/min.

За одржување на константна температура во колоната користена е термостатирана печка Spark Holland "Mistral" (тип 880). Основните стандардни раствори и пробите од пестицидните формулации како и приготвените мобилни фази се дегазирани со помош на ултразвучно купатило од типот "Elma".

За определување на стабилноста на основниот стандарден раствор (stock solution) во метанол како и за определување на неговите апсорпциони карактеристики, користен е UV-VIS спектрофотометар од типот Hewlett Packard Diode Array Spectrophotometer 8452A.

Пробите и работните стандардни раствори се филтрирани преку 0,45  $\mu\text{m}$  Spartan-T шприц филтри (Sigma-Aldrich).

#### **Подготовка на стандардни раствори за разработка на RP-HPLC методи:**

Основните стандардни раствори од дазомет се подготвени со растворање на аналитичкиот стандард во метанол во одмерни тиквички со волумен од 25  $\text{cm}^3$ . Вака приготвените стандардни раствори се дегазирани (10 min) и се чувани на 4 °C (според принципите на SOP's - standard operating procedure- Training Manual, 1995).

**Работни стандардни раствори од дазомет:** Стандардните прави за дазомет се добиени од податоците од мерењата на серија од работни раствори со различна маса. Серијата е подготвена од основниот стандарден раствор, со префрлање на порции со различен волумен во одмерни тиквички со волумен од 10  $\text{cm}^3$ . Тиквичките се дополнети до марката со смеса од ацетонитрил/вода или ацетонитрил/пуфер со волуменски однос 50/50. Секој работен раствор е инјектиран три пати, со одделни порции со волумен од по 5  $\text{mm}^3$ .

**Подготовка на слепа проба за проценка на точноста на разработените методи за дазомет:** Во разработката на методите за определување на дазомет, користена е смеса од аналитичките стандарди на трите изомерни форми од дехидро-димерниот облик на дазомет. Во одмерни тиквички со волумен од 25  $\text{cm}^3$  измерена е соодветна маса од смесата на метаболитите на дазомет и дополнето со метанол до марката. Растворите потоа се ултрасонифицирани, а потоа од нив се земени порции со одреден волумен во одмерни тиквички со волумен од 10  $\text{cm}^3$ . На овие раствори е додадено соодветно количество од дазомет и дополнето со смеса од ацетонитрил/вода или ацетонитрил/пуфер со волуменски однос од 50/50. Пред инјектирање на растворите, истите се филтрирани со 0,45  $\mu\text{m}$  Spartan -T шприц филтри.

**Подготовка на проба за квантитативно определување на дазомет** За определување на уделот на дазомет во пестицидните формулација Basamid Granulat, направени се по две мерења на проби во одмерни тиквички со волумен од 25  $\text{cm}^3$ . Пробите се подготвени, на истиот начин како за подготовката на работните

стандардни раствори. По растворањето, пробите се третирани со ултразвук во ултразвучно купатило во времетраење од 20 min. Од овие раствори, во одмерни тиквички со волумен од 10  $\text{cm}^3$  се префрлени порции со одреден волумен и дополнети до марката со конститuentите на мобилната фаза со еквивалентни волумени. Пред инјектирањето, примероците (5  $\text{mm}^3$ ) се филтрирани низ 0,45  $\mu\text{m}$  Spartan -T шприц филтри.

#### **Подготовка на стандардниот раствор од дазомет за разработка на методи за NP-HPLC**

**Основен стандарден раствор од дазомет:** За разработка на методи за нормално-фазна хроматографија, аналитичкиот стандард на дазомет е растворен во смеса од n-хексан и дихлорметан со волуменски однос 50/50, до вкупен волумен на растворот од 25  $\text{cm}^3$ . Растворите се ултрасонифицирани 20 min со помош на ултразвучно купатило, а потоа се користени за подготовка на серија од работни стандардни раствори.

**Работни стандардни раствори од дазомет:** За проценка на типот на зависност меѓу двете променливи величини (маса на инјектиран аналит и површина или височина на хроматографски пик), од основниот раствор се префрлени порции со одредени волумени во одмерни тиквички со волумен од 10  $\text{cm}^3$ . Аналитичките стандарди се растворени во смеса од n-хексан и дихлорметан со еквивалентни волумени, а потоа од секој работен раствор се инјектирани по три порции со волумен од 5  $\text{mm}^3$ .

**Подготовка на проба за квантитативно определување на дазомет:** Пробите од пестицидната формулација Basamid Granulat се подготвени во одмерни тиквички со волумен од 25  $\text{cm}^3$ , со растворање во смеса од n-хексан/дихлорметан со волуменски однос 50/50. По растворањето, пробите се дегазирани (10 min) во ултразвучно купатило. Од секој раствор е префрлен соодветен волумен, во одмерни тиквички со волумен од 10  $\text{cm}^3$  и дополнето до марката со смесата од n-хексан и дихлорметан. Растворите се филтрирани со 0,45  $\mu\text{m}$  Spartan -T шприц филтри, а потоа од секој раствор се инјектирани по три порции со волумен од 5  $\text{mm}^3$ .

### Резултати и дискусија

Во услови на реверзно-фазна хроматографска анализа, во медиум на ацетонитрил/вода со волуменски однос од 30/70, во спектарот на дазомет се забележуваат три ленти коишто лежат на околу 211 nm, 245 nm и 280 nm. Лентите чијшто максимуми лежат на околу 245 nm и 210 nm имаат послаб интензитет во однос на лентата што лежи на околу 280 nm. Заради поголемата респонсибилност на детекторот во однос на сигналот од испитуваната компонента, мерењата се изведени на бранова должина од 280 nm. Колоната од типот HS C 8 (3,3 cm x 0,46 cm) е користена во разработката на **методот I**, додека за разработка на **методот II** е користена долга колона од типот LiChrosorb RP C 8 (25 cm x 0,4 cm). Експериментите се изведени на температура од 25 °C и проток на мобилна фаза од 1,0 cm<sup>3</sup>/min (Сл.1.).

Во разработката на **методот I**, користена е мобилна фаза составена од ацетонитрил/вода со волуменски однос од 70/30. Притоа е постигнато кратко ретенционо време на дазометво колоната од 0,41 min ( $k = 0,86$ ). Со цел да се зголеми вредноста за факторот на капацитет на колона за дазомет, намален е уделот на ацетонитрил во мобилната фаза до 15 %, при што просечната вредност за времето на задржување на дазомет изнесува околу 0,65 min ( $k = 1,60$ ). Времето на задржување на пиковите од техничките нечистотии на дазомет е околу 1,24 min за изомерната форма Ia; 1,39 min за изомерната форма Ib и 1,58 min за изомерот Iv.

Определената вредност за сепарациониот фактор за дазомет и првиот коелуирачки пик изнесува околу 2,47, што укажува на добра селективност и специфичност на разработениот метод.

Сепарационите фактор за останатите пикови имаат вредност од околу  $\alpha_{IaIb} = 1,15$ ;  $\alpha_{IcIb} = 1,17$ . Со споредба на спектрите на дазомет, снимени од пиковите на аналитичкиот стандард и пестицидната формулација, добиена е вредноста на индексот на чистота на пикот од интерес од околу 1,0. Ова е уште една потврда дека Повеќедневните анализи за проценка на прецизноста на методите во разработка, покажаа губење на ефикасноста на

постои добра сепарација помеѓу пикот од интерес и првиот коелуирачки пик од техничките нечистотии на дазомет.

Мобилна фаза што е користена во разработката на **методот II** е составена од ацетонитрил/вода со волуменски однос од 70/30. Ретенционото време на дазомет е од околу 2,88 min, додека индексот на чистота на сигналот од активната компонента под наведените услови изнесува околу 3. Намалување на бројната вредност за овој параметар е постигнато со намалување на температурата на 25 °C и уделот на органскиот модификатор на 30 %. Имено, под овие услови индексот на чистота на изолираните пикови од дазомет не е повисок од 1,1, а просечното време на задржување е околу 3,85 min ( $k = 1,45$ ).

Под наведените услови за хроматографирање постигната е и добра сепарација на компонентата од интерес од нејзините метаболити. Имено, времето на задржување на дехидро-димерните форми на дазомет е околу 4,40 min, 4,61 min и 4,88 min ( $k_{Ia} = 1,80$ ;  $k_{Ib} = 1,94$ ;  $k_{Ic} = 2,11$ ). Вредноста за сепарациониот фактор ( $\alpha$ ) за дазомет и првата изомерна форма што е елуирана по него, изнесува околу 1,24, додека за останатите пикови неговата вредност е:  $\alpha_{IaIb} = 1,08$ ;  $\alpha_{IbIc} = 1,09$ .

Линеарната зависност помеѓу зависно променливите величини (височина или површина на пик и маса на дазомет) за **методите I и II** е тестирана во интервал од 8,68 ng до 465 ng. Добиените вредностите за коефициентите на детерминација ( $r^2 = 0,99981$ , за **методот I**;  $r^2 = 0,99977$  за **методот II**), укажуваат на добра линеарна зависност на површината на пикот од масата на аналитот. Имено, вредностите за овој коефициент за квадратниот и кубниот модел се слични со линеарниот, па заради едноставност, испитуваните методи може да се третираат за линеарни

Вредностите за долната граница на детекција за **методите I и II** се 881,6 pg за **методот I** и 2,88 pg за **методот II**.

Вредностите за проценка на рипитабилноста во еднодневните анализи и интермедијарната прецизност се добиени со инјектирање на аналитичкиот стандард од дазомет со маса од 232 ng.

Колоната од типот LiChrosorb C 8 (**метод II**). Имено, по неколку инјектирања, пикот од дазомет покажа тренд на развлекување.

Покрај тоа површината на интегрираните пикови за иста маса од анализот, е помала кај колоната од типот LiChrosorb во однос на кратката колона од типот HS C 8, што веројатно се должи на: екстра колонскиот ефект, несакани интеракции на примерокот со колоната или други хроматографски проблеми (Chrom Book).

Интермедијарната прецизност на ретенционото време и површината на пикот од дазомет за HS колоната е проценета од добиените статистички параметри со ANOVA тестот. Пресметаните вредности за Фишеровиот статистички критериум ( $F_{2,14; 0,05}$  и  $F_{7,14; 0,05}$ ) се пониски од табличните вредностите за  $F$  при истиот број на степени на слобода и коефициент на ризик ( $F_{2,14; 0,05} = 3,739$  и  $F_{7,14; 0,05} = 2,764$ ). Одтука може да се констатира дека не постои значајна статистичка разлика меѓу едnodневната и повеќедневната пофторливост на времето на задржување и површината на пикот на компонентата од интерес, добиени со употреба на **методот I**. Просечната вредност на аналитичкиот принос е 101,44 % со RSD= 0,39 % (n=6) за помалата маса (200 ng) од додадениот аналит и 100,78 % со RSD= 0,70 % (n=6) за

поголемата маса (400 ng) од додадениот аналит.

Уделот на дазомет во испитуваните примероци изнесува околу 98,66 % со RSD=0,54 % (n=6) за поголемата маса од измерената проба, додека за помалата маса од измерена проба изнесува околу 98,56 % со RSD= 0,58 % (n=6). Определениот удел на активната компонента во формулацијата одговара на содржината што ја декларира производителот. Користејќи го фактот дека растворливоста на дазомет во неполярни солвенти како што е циклохексан (400 g/kg) е поголема отколку во поларни солвенти како на пример вода (3 g/kg) (Tomlin C., 1997), направен е обид за разработка на метод со помош на нормално-фазна течна хроматографија, во којшто е користена интермедијарната колона од типот Lichrosorb CN (5  $\mu$ m, 25 x 0,4 cm, Merck). Ова е воедно и единствен обид за разработка на метод за квантитативно определување на дазомет со помош на нормално-фазната течна хроматографија.

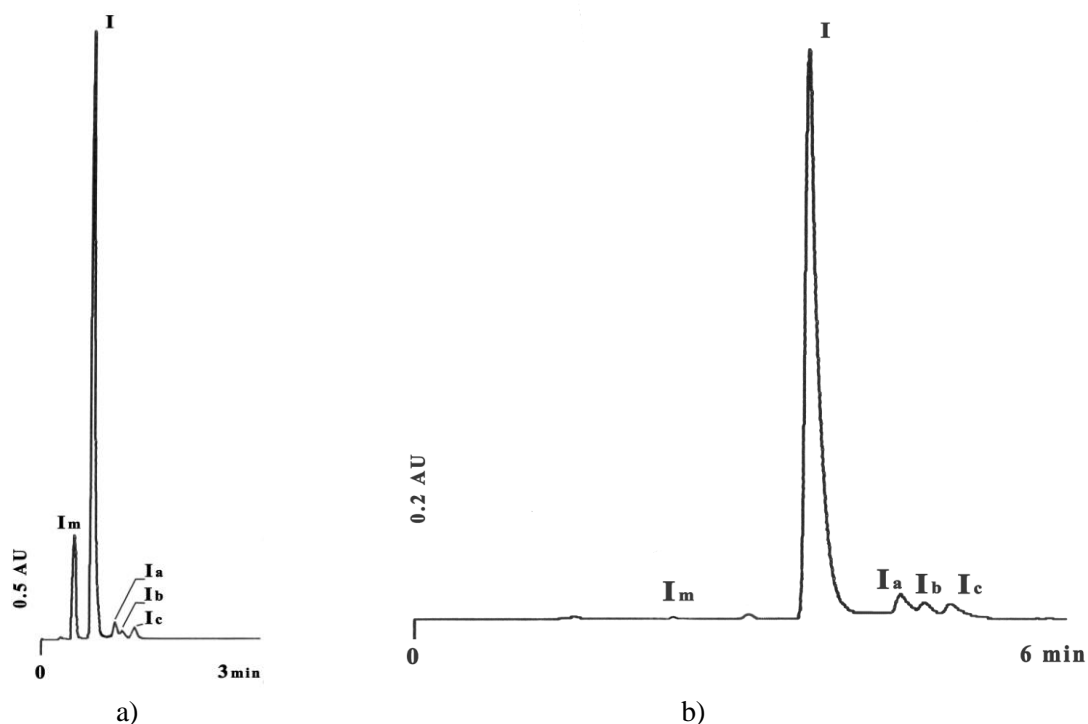


Figure 1. a) Chromatogram of dazomet-I (232 ng), its dehydro-dimer forms-Ia, Ib, Ic and methanol-Im, separated on HS Pecosphere 3 x 3 C8 column and LiChrosorb C 8, mobile phase acetonitrile/water (15/85, v/v method I); b) 30/70 method II, flow rate 1 cm<sup>3</sup>/min, column temperature 25 °C; UV detection 285 nm.

Сл. 1. а) Хроматограм на дазомет (232 ng) (I), неговите дехидро-димерни форми (Ia, Ib, Ic) и метанол (Im) добиен на колоните HS C-8 и LiChrosorb C-8, мобилна фаза составена од ацетонитрил/вода со волуменски однос 15/85 (метод I) и б) 30/70 (метод II), проток од 1,0 cm<sup>3</sup>/min, температура 25 °C, UV детекција на бранова должина од 280 nm.

Во статијата на Osselton i Snelling 1986 се определени спектралните карактеристики и факторот на пеесетина пестициди меѓу кои се наоѓа и дазомет ( $k=2,19$ ). Во испитувањата, авторите користеле колона од типот Spherisorb S5W (250 mm x 5 mm), и мобилна фаза составена од дихлорметан/изооктан, со волуменски однос од 60/40 и проток од 2 cm<sup>3</sup>/min.

За разработка на **методот III**, се користени колоните од типот HS Pecosphere 3 x 3. Во спектарот на дазомет снимен во раствор на n-хексан/дихлорметан со волуменски однос 50/50 егзистираат две ленти што лежат на околу 246 и 287 nm. Бидејќи UV сигналот е функција од апсорпциониот моларен коефициент, во согласност со апсорпциониот спектар на дазомет, заради повисокиот интензитет на лентата што лежи на подолга бранова должина, испитувањата се изведени на 285 nm.

Испитувањата што се изведени на колоната од типот LiChrosorb Silica, со мобилна фаза составена од n-хексан/дихлорметан со

Silica (3 μm, 3,3 x 0,46 cm, Perkin Elmer), LiChrosorb Silica 60 (5 μm, 25 x 0,4 cm, Merck) и претходно наведената интермедијарна колона од типот LiChrosorb CN.

Во испитувањата, кај сите тестирани стационарни фази е употребена мобилна фаза подготвена од разлучни волуменски односи на n-хексан и дихлорметан.

во луменски однос 40/60, температура од 25 °C и проток на мобилна фаза 2 cm<sup>3</sup>/min, покажаа отсуство на хроматографски сигнал на компонентата од интерес, во 23 min хроматографирање. Пикот од интерес не излегува од колоната, дури и во услови кога уделот од дихлорметан во мобилната фаза е 90 %, а протокот на мобилната фаза 2,2 cm<sup>3</sup>/min.

Причината за преципитацијата на дазомет на стационарната фаза е можеби резултат на киселата природа на силика гелот, заради што органските амини многу силно

се задржуваат на него или пак се елуираат како многу асиметрични пикови (Lough W. и Wainer W, 1996). Ако се има во предвид дека елуирачката сила на изооктанот изнесува 0,01, а на *n*-хексанот 0,00, тогаш може да се претпостави дека несовпаѓањето на добиените резултати со литературните податоци, веројатно се должи на разликите во типот на адсорбентот со којшто е пакувана хроматографската колона.

Со примена на кратка колона од типот HS Pecosphere 3 x 3 Silica со димензија на лента од 3,3 cm, мобилна фаза составена од *n*-хексан/дихлорметан со волуменски однос од 20/80, протокот на мобилна фаза од 2 cm<sup>3</sup>/min и температура од 25 °C постигнато е време на задржување на дазомет од 3,44 min (*k*=16,2). Пикот на дазомет што е добиен под наведените услови, има неправилна форма во основата на фронталниот дел.

Хемиски модифицираните силики (Lough W. и Wainer W, 1996), меѓу кои спаѓаат аминокпропил-, цианопротпил- и диолните фази се успешни алтернативи за силика геловите како стационарна фаза во нормално-фазната течна хрома-тографија. Намалената активност на цианопротпил-аминокпропил-, и диолните фази во споредба со силика геловите ги прави попримателни за сепарација на компоненти со средна поларност. Соединенијата со средна поларност исто така се погодни за определување со реверзно-фазната хроматографија, при што изборот меѓу нормално-фазна и реверзно-фазна течна хроматографија повеќе се базира на природата на матрицата отколку на својствата на анализот.

Интермедијарните колони од типот LiChrosorb CN (5µm, 25 x 0,4 cm), се користат во системи во коишто може да се употребат типични нормално-фазни и реверзно-фазни елуенти (Шатц В. Д., 1988). Во последниот случај, нејзините својства наликуваат на оние од силикагел, меѓутоа присуството на нитрилните групи ја менуваат селективноста на почетниот

материјал. Во однос на одредени групи на соединенија цианоетил-силикагеловите поседуваат задоволителна задржувачка способност како во нормално-фазниот така и во реверзно-фазниот режим на хроматографирање.

Прв чекор (Lough W. и Wainer W, 1996) за оптимизација на мобилната фаза, со цел да се обезбеди максимална резолуција на сите анализи во примерокот, е регулирањето на силата на солвентот. Имено, за да се намали времето на анализата, пожелно е сите компоненти во примерокот да се елуираат со вредност за *k* помеѓу 2 и 10.

Со користење на интермедијарна колона од типот CN и нормално-фазни услови за хроматографирање (Сл.2) во коишто е употребена мобилна фаза во состав *n*-хексан/дихлорметан со волуменски однос од 50/50 и проток од 1,3 cm<sup>3</sup>/min постигнато е ретенционо време на дазомет од околу 3,56 min (*k*=1,82). Времето на задржување на првиот коелуирачки пик на дазомет (5,5' изомерот) изнесува околу 4,11 min, неговиот факторот на капацитет околу 2,26, додека сепарациониот фактор за двете соседни компоненти изнесува околу  $\alpha_{11a}=1,24$ . Вредностите на сепарационите фактори за пиковите од метаболитите на дазомет се:  $\alpha_{1a1a}=1,99$ ;  $\alpha_{1a1a}=1,1$ .

Типот на зависност помеѓу масата на дазомет и површината или височината на хроматографските сигнали е тестиран во интервал од 35 ng до 875 ng. Коэффициентите на детерминација што се добиени со тестирање на вредностите за површина на пик како случајно променлива, за трите типа на равенки се значително поголеми од оние во коишто како променлива величина е користена височината на хроматографскиот сигнал. Високата вредност за коэффициентот на детерминација (0,99970) покажува добра линеарна зависност помеѓу масата на анализот и површината на добиените пикови.

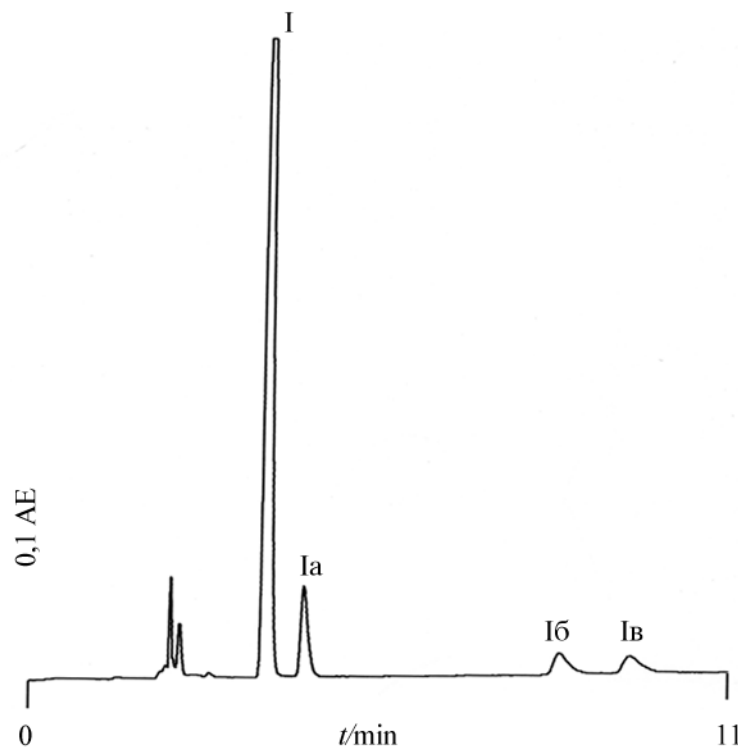


Figure 2. Chromatogram of dazomet (I) and its dehydro-dimer forms (Ia; Ib; Ic) separated on LiCrosorb CN, mobile phase n-hexane/dichloromethane (50/50,v/v); flow rate 1.3 ml/min; column temperature 25 °C; UV detection at 285 nm.

Сл. 2. Хроматограм на дазомет (I) и неговите дехидродимерни форми (Ia, Ib, Iv) сепарирани на LiCrosorb CN, мобилна фаза n-heksan/dihlorometan со волуменски однос 50/50, проток 1,3 cm<sup>3</sup>/min, температура 25 °C и UV детекција на бранова должина од 285 nm

Долната граница на детекција за дазомет е определена на осетливост на детекторот од 0,05 АЕ, а изнесува околу 4,375 ng (n = 5).

Точноста на методот е проценета преку добиените вредности за аналитичкиот принос за аналит што е додаден во смесата од метаболитите на дазомет. Вредностите за аналитичкиот принос се: 99,16 % (n = 6) со RSD = 0,41 % за помалата маса од значајна статистичка разлика меѓу добиените резултати за ретенционото време и површината на пикот на дазомет, во едnodневните и во тридневните определувања.

Добиените вредности за F пресметани од експерименталните податоци за ретенционото време и површината на хроматографските сигнали  $F_{0.05;2,14}$  и  $F_{0.05;7,14}$  се пониски од табличните вредности за овој статистички критериум  $F_{0.05}(2, 14) = 3.739$  и  $F_{0.05}(7, 14) = 2.764$ . Одтука, може да се констатира дека од статистичка гледна точка непостои значајна разлика меѓу

додадениот аналит и 103,02 % (n = 6) со релативна стандардна девијација од 0,81 % за поголемата маса од додадениот аналит во слепата проба.

Прецизноста на разработениот метод е проценета од добиените вредностите за статистичките параметри од ANOVA тестот, направен со цел да се одговори на прашањето дали постои добиените резултати во едnodневните и повеќе дневните анализи.

Средната вредност на уделот на активната компонента во тестираните примероци од пестицидната формулација изнесува 98,5 % со RSD = 0,15 % (n = 6) за помалата маса од измерената проба и 99,4 % (n = 6) со RSD = 0,12 % за поголемата маса од измерената пробата.

#### Заклучоци

Врз основа на добиените резултати од тестирањето на разработените методи за квантитативно определување на дазомет во



пестицидната формулација VAsamid Granulat, може да се констатира дека, високоефикасната течна хроматографија со детектор со низа од диоди е прецизна, брза, директна и едноставна техника за нивно определување. При тоа брзите колони од типот HS 3x3 со димензии 3,3x0,46cm (3 $\mu$ m) покажуваат извонредни сепарациони способности и нудат можност за брза односно економична анализа во којашто уделот на ацетонитрил се сведува дури и на 15 %.

Вредностите за долната граница на детекција за **методите I и II** се 881,6 pg за **методот I** и 2,88 ng за **методот II**. Долната граница на детекција за дазомет е определена на осетливост на детекторот од 0,05 АЕ, а изнесува околу 4,375 ng.

### Литература

1. Tomlin C., The Pesticide Manual Incorporating the Agrochemicals Handbook, 11 th Edition, Crop Protection Publications, 1997, 279-280; 821-822.М. Постоловски, Ф.
2. СIРАС method, 1984, 2074-2077.
3. В. Petanovska-Ilievska, (2001), Determination of Dazomet in Basamid Granulat by Normal Phase High Performance Liquid Chromatography, *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, во печат.
4. В. R. Petanovska-Ilievska and L. B. Vodeb, (2002), Determination of Dazomet in Basamid Granulat Using Reversed Phase HPLC, *Croatica Chemica Acta*, во печат.
5. Training Manual for Pesticide Residue Analysis, Vol. 2, Natural Resources Institute, 1995, B-5; B-24.
6. Chrom Book, 2nd Edition, Merck
7. M. D. Osselton and R. D. Snelling. Chromatographic identification of pesticides, *Journal of Chromatography*, 368 (1986) 265-271.
8. W. SJ. Lough, I. W. Wainer, High Performance Liquid Chromatography Fundamental Principles and Practice, Blackie Academic & Professional, an imprint of Chapman & Hall, Glasgow UK, 1996, pp.58; 88; 156 - 163.
9. В. Д. Шатц, О. В. Сахартова. В]соко-ф]фективн] жидкостна] хромато-графи], Рига: Зинатне, 1988, 167.