

На правах рукописи

Алтухова Анна Александровна

**ЭКОЛОГО-АНАЛИТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ**

03.02.08 – экология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук**

Москва-2014

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Королёв Владимир Анатольевич доктор биологических наук, ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» МИНЗДРАВА РОССИИ, доцент кафедры биологии, медицинской генетики и экологии

Официальные оппоненты:

Стифеев Анатолий Иванович доктор сельскохозяйственных наук, ФГБОУ ВПО «Курская государственная сельскохозяйственная академия им. профессора И.И.Иванова» профессор, заслуженный деятель науки, заведующий кафедры экологии и охраны природы

Ладнова Галина Георгиевна доктор биологических наук, ФГБОУ ВПО «Орловский государственный университет», профессор, заведующая кафедрой общей биологии и экологии

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Воронежская государственная медицинская академия имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « 3 » июля 2014 г. в 14 часов на заседании Совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 212.203.17 при Российском университете дружбы народов по адресу: 115093, г. Москва, Подольское шоссе, д. 8/5.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6.

Автореферат разослан « 30 » апреля 2014 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук, доцент

Е.А. Карпухина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Большой экономический ущерб сельскому хозяйству наносит сорная растительность, для борьбы с которой существует отдельная группа пестицидов – гербициды. Одним из наиболее широко используемых гербицидных препаратов в мире уже более полувека является 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д), которая предназначена для уничтожения двудольных сорняков в посевах зерновых культур. Существует много информации, касающейся различных случаев токсического воздействия ядохимиката на здоровье человека, отмечены инциденты с летальным исходом [Куликова Н.А., 2010; Лепешкин И.В., 2004; USDA, 2006].

Известны случаи выявления 2,4-Д в продуктах переработки сельскохозяйственных культур и даже в мясе и молоке коров, что может отрицательно сказаться на здоровье людей. Риск негативного воздействия гербицида 2,4-Д возрастает в случае проживания людей в регионах, специализирующихся на возделывании злаков, а также на территориях, расположенных вблизи предприятий по производству данного гербицида [Давидюк Е.И., 2004; Гафурова С., 2011]. В доступной литературе отсутствуют данные об объёмах применения гербицидного препарата в сельскохозяйственных регионах, например, на территории Курской области. Вопросы качественного и количественного определения содержания 2,4-Д в биологических объектах остаются недостаточно разработанными до сих пор; не обеспечена высокая точность и быстрота выполнения анализа, в связи с чем возникает необходимость в усовершенствовании методик обнаружения препарата.

Таким образом, вышеизложенное объясняет актуальность поливекторного экологического и аналитического исследования гербицида с возможностью оценки риска его использования в агропромышленном комплексе.

Цель работы: проведение эколого-аналитического исследования 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты с разработкой унифицированных методик мониторинга в объектах окружающей среды.

Задачи исследования:

1. Оценить объёмы использования и территориальные нагрузки гербицидов в целом и непосредственно 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в Курской области.

2. Выделить экологически неблагоприятные территории региона по уровню пестицидных нагрузок.

3. Определить экологические риски развития патологий желудочно-кишечного тракта населения в условиях интенсивного применения гербицида 2,4-Д.

4. Изучить спектрофотометрические характеристики и хроматографическую подвижность 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты с целью создания методик экспресс-контроля.

5. Изучить особенности экстракции объекта исследования различными группами изолирующих агентов из биологического материала, разработать схему очистки извлечений из сырья злаковых культур.

6. Разработать методики количественного определения 2,4-Д в биоматериале и апробировать их на агрокультурах.

Научная новизна. Впервые изучены динамика применения, объёмы использования и рассчитаны территориальные нагрузки ядохимиката 2,4-Д в районах Курской области, проведено ранжирование территорий по уровню пестицидной нагрузки с выделением экологически неблагоприятных районов. Оценены относительные экологические риски развития ряда форм патологий желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) детского и взрослого населения Курской области в зонах интенсивного применения гербицидов группы 2,4-Д.

Исследованы особенности хроматографического поведения 2,4-Д в тонких слоях сорбента и в аналитических колонках для ВЭЖХ-анализа. Впервые оценены представленные в работе подвижные фазы различной полярности. Рассмотрены особенности поглощения веществом (в разных по химической природе растворителях) электромагнитного излучения в УФ-области спектра. Разработана методика извлечения 2,4-Д из биологического материала, очистки получаемых извлечений и количественного анализа. Впервые в качестве изолирующего агента использовали этилацетат; для количественного определения 2,4-Д при мониторинге предложены методы хроматоспектрофотометрии и ВЭЖХ. Разработанные методики были апробированы на агрокультурах и запатентованы.

Практическая значимость. Результаты ранжирования районов Курской области с выделением экологически неблагоприятных территорий с относительно высокими объёмами применения 2,4-Д, а также показатели относительного экологического риска формирования патологий ЖКТ у населения области могут быть полезны для служб мониторинга за состоянием окружающей природной среды, региональных

представителей природоохранных органов Госкомэкологии. Данная информация может быть использована для оценки экологической ситуации по уровням загрязнения окружающей среды отдельных административно-территориальных единиц Курской области.

Разработанная методика идентификации и количественного определения 2,4-Д может применяться для санитарно-эпидемиологического контроля в службах Россельхознадзора, на станциях агрохимической защиты.

Результаты исследования могут быть рассмотрены в университетах при изучении курсов биологии и экологии, токсикологической и аналитической химии.

Положения, выносимые на защиту:

1. Пестицидная нагрузка в Курской области за последнее десятилетие характеризуется как средняя, при этом 7 районов области являются неблагоприятными по объёмам применения гербицида 2,4-Д.

2. Увеличение относительного экологического риска возникновения болезней поджелудочной железы, желчного пузыря и желчевыводящих путей у детей, а также гастритов и дуоденитов у взрослых обусловлено значительными объёмами внесения гербицида 2,4-Д на отдельных территориях области.

3. Результаты исследования хроматографической подвижности 2,4-Д в тонких слоях сорбентов позволили выбрать оптимальную подвижную фазу (гексан – диэтиловый эфир (6:4)) и указывают на целесообразность применения в экологическом контроле нормальнофазовой хроматографии.

4. Методика экстракции объекта исследования из биологического материала и ступенчатой очистки позволяет максимально отделить соэкстрактивные вещества.

5. Предлагаемые унифицированные методики идентификации и количественного определения 2,4-Д с использованием хроматоспектрофотометрии и ВЭЖХ характеризуются экспрессностью и высокой степенью точности.

Внедрение результатов работы на Федеральном уровне. На основе проведённых исследований, представленных в диссертации, был получен патент на изобретение № 2453848: «Способ определения 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты в биологическом материале».

Связь исследований с проблемным планом биологических наук.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ кафедры биологии, медицинской генетики и

экологии Курского государственного медицинского университета и соответствует проблеме «Экология». Номер государственной регистрации 01201266227.

Апробация работы. Основные положения работы были представлены на X и XI международных научно-практических конференциях «Экология и безопасность жизнедеятельности» (Пенза, декабрь 2010; декабрь 2011), на VIII международной научно-практической конференции «Окружающая среда и здоровье» (Пенза, май 2011), в материалах II Всероссийской научной конференции с международным участием «Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии» (Курск, 17-19 мая 2011), на 75, 76, 77-й итоговых научных конференциях студентов и молодёжи КГМУ «Молодёжная наука и современность» (Курск, 2010, 2011, 2012), на четвертой международной телеконференции "Проблемы и перспективы современной медицины, биологии и экологии" (Томск, 2011), в материалах VI Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых-медиков, организованной Воронежским, Курским, Казанскими медицинскими вузами (Казань, 2012), в материалах V всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биомедицинская инженерия и биотехнология» (Курск, 2012).

Личный вклад. Автор принимал участие в постановке цели, задач и разработке плана исследований, провел анализ зарубежных и отечественных источников литературы по теме диссертации, выполнил экспериментальные исследования, провел статистическую обработку данных. Полученные результаты проанализированы совместно с руководителем, сделаны выводы и обобщения. В работах, выполненных в соавторстве, использованы результаты исследования с долей участия автора 70-80%.

Публикации. По материалам работы было опубликовано 13 статей во всероссийской и международной печати, 6 статей в научных рецензируемых журналах (рекомендуемых ВАК, для публикации материалов диссертации).

Объём и структура диссертации. Диссертационная работа включает в себя введение, 5 глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, 3 главы результатов собственных исследований), заключение, выводы и список использованной литературы. Работа изложена на 145 страницах, содержит 20 рисунков и 30 таблиц. Библиографический список включает 205 источников, из них 106 на русском и 99 - на иностранных языках.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования являлись данные об объёмах применения пестицидов в целом, гербицидов в частности и конкретно 2,4-Д за период 2000-2010 годы для 28 районов Курской области. Оценка объёмов внесения в почву препарата 2,4-Д проводилась по количеству действующего вещества, территориальная нагрузка гербицида рассчитана с учётом информации о площади посева обрабатываемых культур.

Материалом для изучения заболеваемости населения Курской области послужили сведения об обращаемости за медицинской помощью детей (в возрасте от 0 до 15 лет) и взрослых (с 18 лет) в районные учреждения здравоохранения, в Областную детскую поликлинику и Курскую областную клиническую больницу за период с 2006 по 2010 годы, а также данные, полученные из амбулаторных карт населения, находящихся на лечении в лечебно-профилактических учреждениях области. Величину относительного экологического риска (R) формирования патологий в условиях интенсивного применения гербицида 2,4-Д вычисляли с применением 4-польной формулы Двойрина. Статистическую значимость определяли с помощью критерия χ^2 . Наличие связи исследуемого фактора с заболеванием считали установленной с вероятностью 95% при $\chi^2 \geq 3,84$ и с вероятностью 99% при $\chi^2 \geq 6,63$. Для оценки степени ошибочности расчётов риска использовали критерий Колмагорова-Смирнова (p), значение которого не должно превышать 0,05.

Объектом исследования была выбрана 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (фирма-производитель Sigma-aldrich, США, содержание основного вещества не менее 97%). 2,4-Д как гербицидный препарат в настоящее время не выпускается, а входит в состав различных комплексных препаратов.

На территории Курской области наибольшие объёмы использования зарегистрированы для 2,4-Д-содержащего препарата Диален Супер. В качестве материала для исследования были взяты сельскохозяйственные культуры, обрабатываемые препаратом Диален Супер, согласно справочнику «Список пестицидов и агрохимикатов разрешенных к применению на территории Российской Федерации 2012 год». Используемые сорта злаков: мягкая яровая пшеница «Курская 2038», озимая пшеница «Московская 39», рожь «Талловская 33», яровой ячмень «Суздалец», овёс «Борец», кукуруза «ПР39Г12».

Для разработки способов качественного и количественного определения применены методы СФМ, ТСХ, ВЭЖХ. Эксперименты проводили на модельных смесях измельченных зерен злаковых культур с известным содержанием порошкообразного вещества 2,4-Д.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объёмы применения гербицидов и непосредственно 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты в Курской области

За период с 2000 по 2010 годы в агробиоценозах Курской области использовалось более 120 различных ядохимикатов со средним количеством внесения в почву 616 тонн в год.

На рисунке 1 представлены основные восемь групп пестицидных препаратов. Гербициды занимают 2-е место среди используемых в Курской области ядохимикатов, незначительно их опережают фунгициды. Объём использования гербицидов составляет 261,2 тонны в год или 42,41% удельного веса всех пестицидных препаратов.

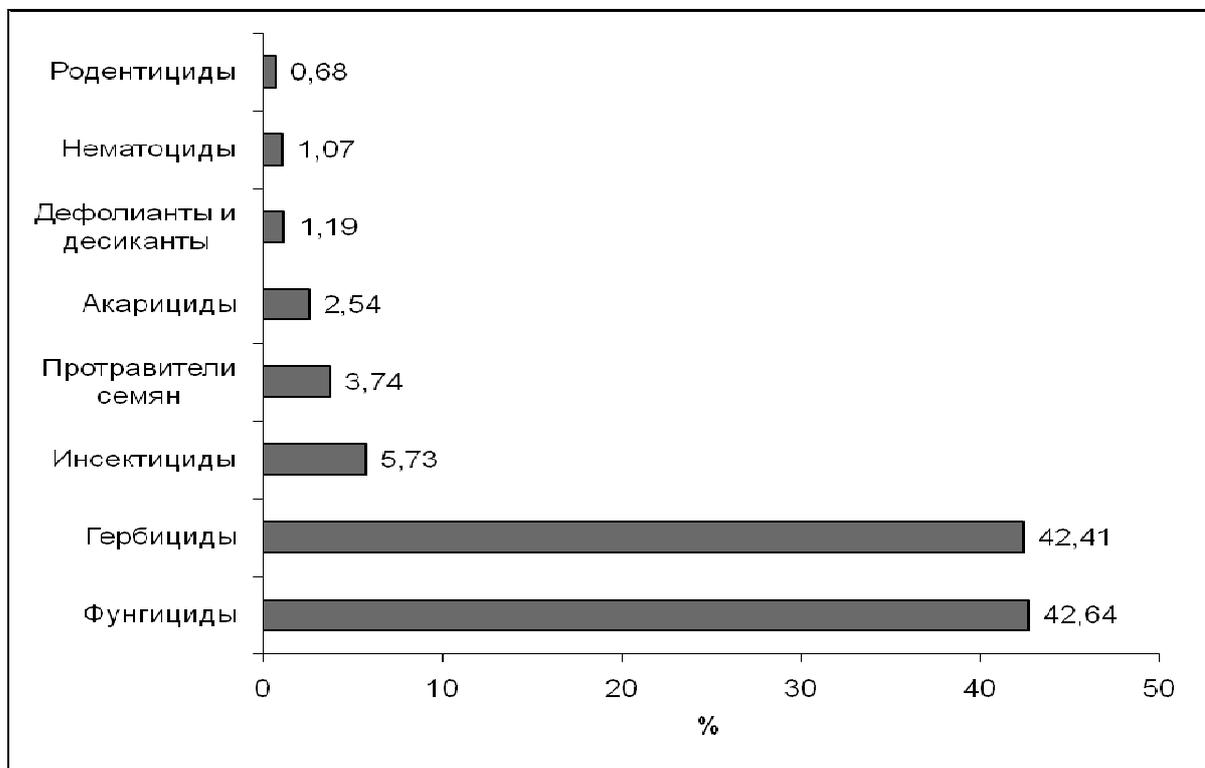


Рис.1. Удельный вес групп пестицидных препаратов, применяемых в Курской области за период с 2000 по 2010 гг.

Объёмы применения гербицидов подвержены высокой вариабельности по годам: от 160 до 371 тонны, динамика представлена на рисунке 2. Однако территориальные нагрузки претерпевают небольшие изменения, особенно в последние годы изучаемого периода, и составляют более 90 г на гектар посевной площади. Резкое увеличение территориальных нагрузок наблюдалось только в 2001 году и достигло значения 152 г/га.

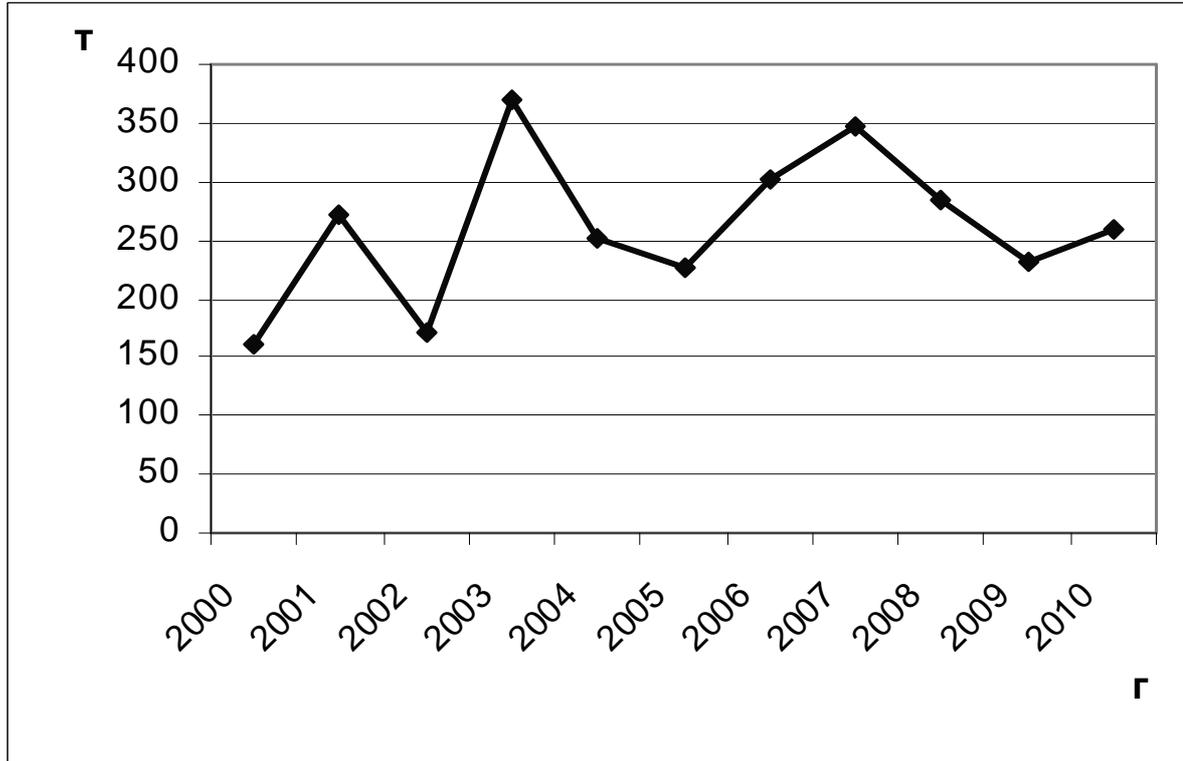


Рис.2. Динамика объёмов применения гербицидов в Курской области за период 2000-2010 гг.

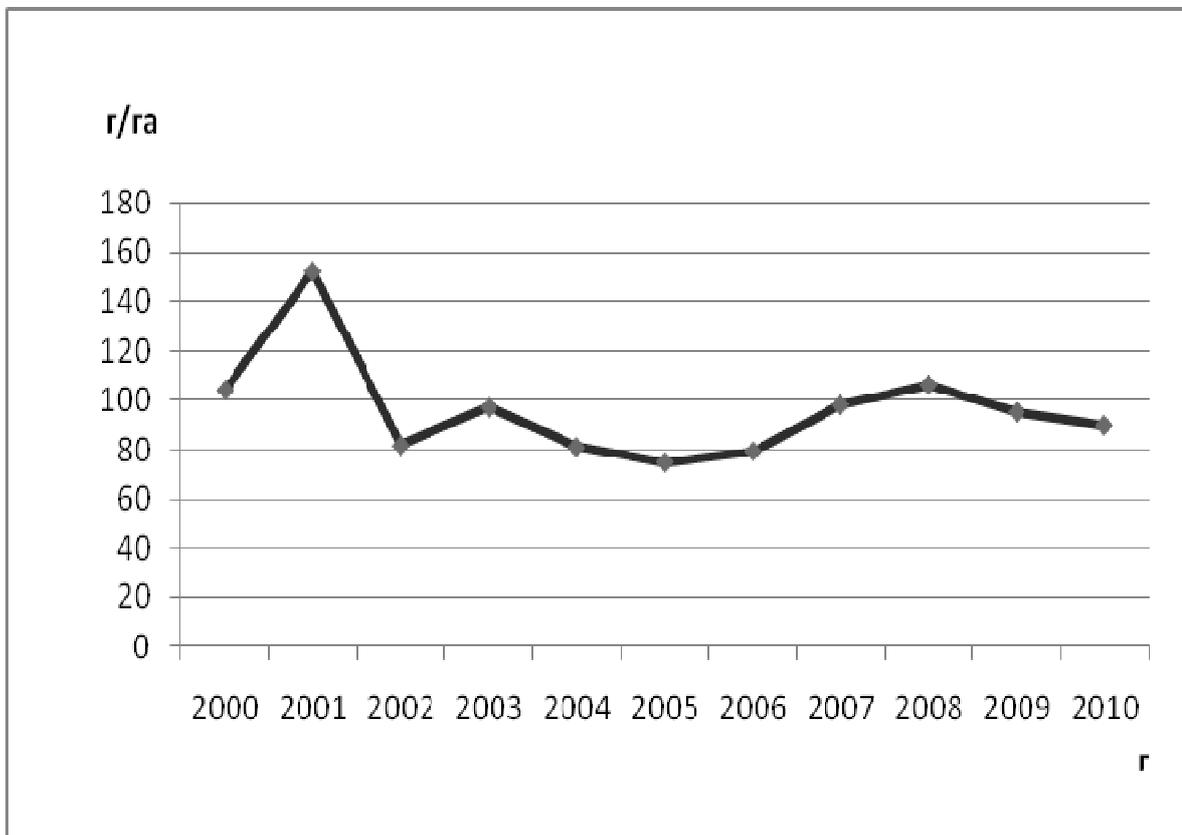


Рис.3. Динамика территориальных нагрузок гербицидов в Курской области за период 2000-2010 гг.

Объём применения 2,4-Д по Курской области в среднем равен 78 тоннам в год за изучаемый период, при этом максимальное значение составило 106 тонн в 2008 году. Территориальные нагрузки исследуемого вещества колеблются от 70 до 131 г/га в различные годы. Данные по объёмам применения 2,4-Д в районах области, а также территориальные нагрузки гербицида представлены в виде диаграмм на рис. 4 и 5.

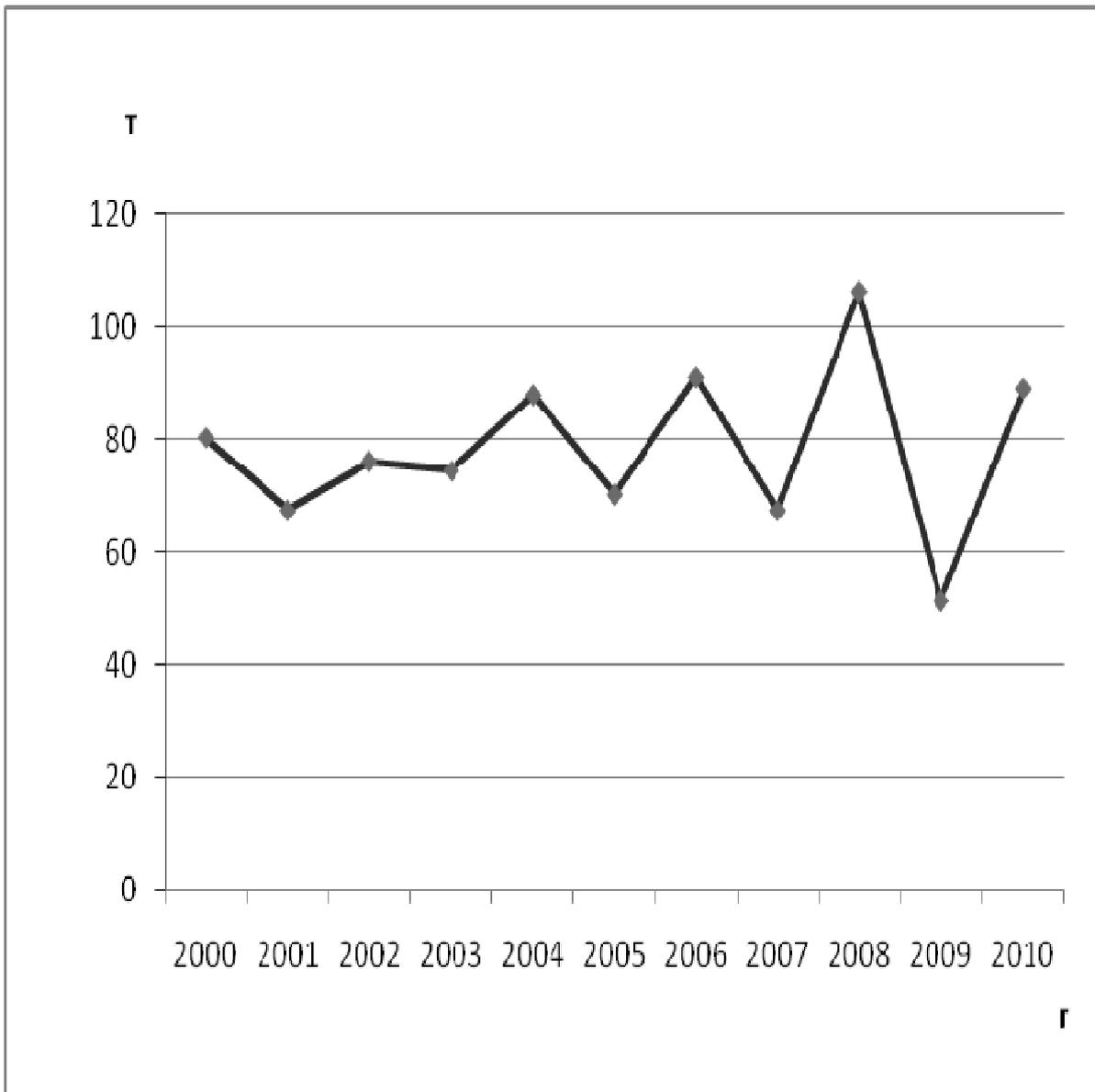


Рис.4. Динамика средних объёмов применения гербицида 2,4-Д в районах Курской области

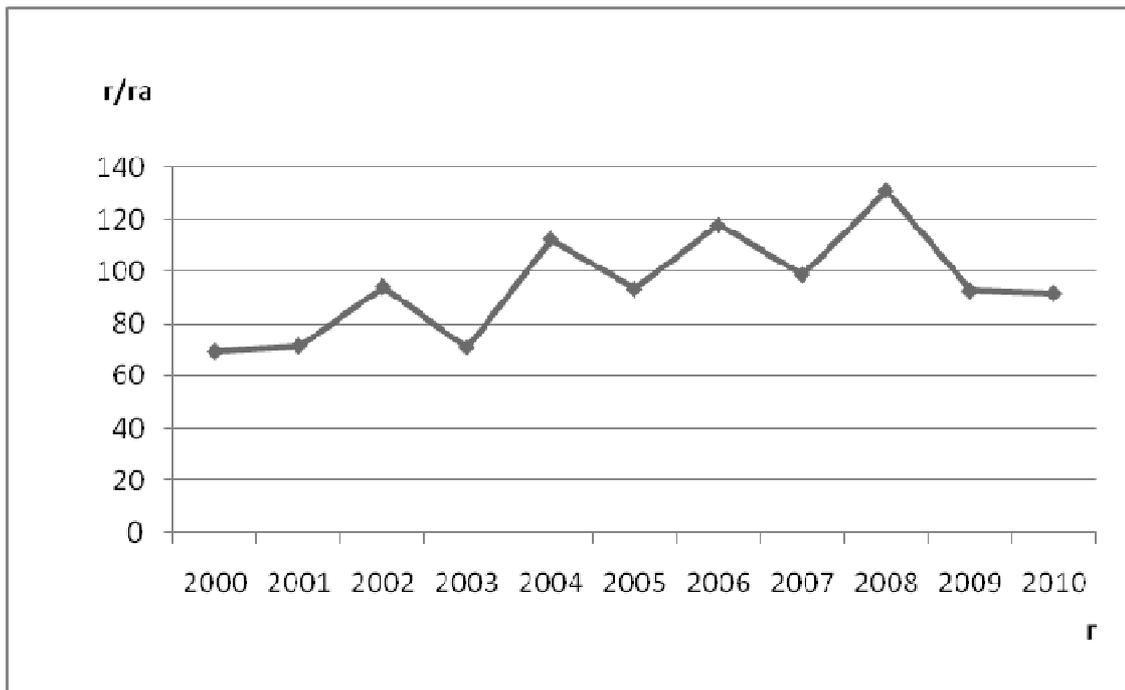


Рис.5. Динамика территориальных нагрузок гербицида 2,4-Д в Курской области

По объёмам внесения гербицида 2,4-Д за изучаемый период провели ранжирование 28 районов Курской области, результаты для наглядного территориального представления оформлены в виде картограммы на рисунке 6.



Рис.6. Среднегодовые объёмы применения гербицида 2,4-Д в Курской области за период с 2000 по 2010 гг.

В результате экологического районирования выделены территории:

1. С высокими объёмами применения 2,4-Д (более 4 тонн в год) – Фатежский, Тимский, Черемисиновский, Щигровский, Советский, Медвенский и Обоянский районы.
2. Со средними объёмами применения 2,4-Д (от 2 до 4 тонн в год) – Больше-Солдатский, Глушковский, Кореневский, Курский, Курчатовский, Октябрьский, Рыльский и др.
3. С незначительными объёмами применения 2,4-Д (менее 2 тонн в год) – Беловский, Дмитриевский, Железногорский, Золотухинский, Касторенский, Коньшевский, Суджанский и Горшеченский районы.

Провели расчёт территориальных нагрузок на основе имеющихся данных о площади посева культур в каждом районе, обрабатываемой исследуемым гербицидом. Среднегодовые территориальные нагрузки находятся в пределах от 32 г/га в Горшеченском районе до 216 г/га 2,4-Д в Фатежском районе за изучаемый период.

Так, к районам с относительно высоким значением территориальных нагрузок гербицида (более 120 г/га) относятся Советский, Черемисиновский, Тимский, Обоянский, Фатежский, Щигровский и Медвенский районы. Результаты ранжирования районов по уровню нагрузки 2,4-Д представлены на рисунке 7.



Рис.7. Территориальная нагрузка 2,4-Д (г/га) в Курской области за период с 2000 по 2010 гг.

Относительный экологический риск развития патологий ЖКТ среди населения Курской области в условиях высоких гербицидных нагрузок.

В ходе анализа распространённости изучаемых патологий ЖКТ у детей и взрослых проведено ранжирование региона и выделены относительно неблагополучные районы, характеризующиеся высокой частотой встречаемости патологий и районы с минимальным уровнем заболеваемости. Проведённый расчёт относительного экологического риска развития патологий ЖКТ в условиях высоких территориальных нагрузок 2,4-Д позволил установить связь между пестицидом и возникновением отдельных патологий ЖКТ (таблица 1).

Таблица 1

Относительный экологический риск возникновения патологий ЖКТ у населения Курской области в условиях интенсивного применения 2,4-Д

№	Патологии ЖКТ	дети			взрослые		
		R	χ^2	p	R	χ^2	p
1	Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки	1,34	1,10	0,2933	0,99	0,01	0,904
2	Гастрит и дуоденит	1,19	1,86	0,1725	1,56	13,32	0,0003
3	Энтериты и колиты	0,51	0,43	0,5142	1,33	1,18	0,2780
4	Болезни поджелудочной железы	2,06	4,88	0,0272	0,77	2,82	0,0931
5	Болезни желчного пузыря и желчевыводящих путей	3,95	13,45	0,0002	1,20	2,84	0,0919
6	Функциональные расстройства кишечника	0,88	0,15	0,7003	-	-	-
7	Болезни печени	-	-	-	1,46	2,69	0,1010

В результате анализа установлена вовлеченность исследуемого гербицида в формирование двух нозологий детского организма – болезни поджелудочной железы, а также болезни желчного пузыря и желчевыводящих путей с увеличением риска развития в 2,06 (с вероятностью 95%) и 3,95 раза (с вероятностью 99%). У взрослых увеличен в 1,56 раза риск развития гастрита и дуоденита с вероятностью 99%. По остальным нозологиям статистически достоверных значений относительного экологического риска не зарегистрировано ($p > 0,05$).

Определение 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты методом спектрофотометрии в сочетании с тонкослойной хроматографией

Для реализации возможности проведения идентификации и количественного определения 2,4-Д методом хроматоспектрофотометрии были рассмотрены особенности поглощения УФ-излучения веществом 2,4-Д в некоторых растворителях. В качестве растворителей были взяты неионизирующие и ионизирующие жидкости различной полярности: дистиллированная вода, 0,1 Н раствор гидроксида натрия (NaOH), 0,1 Н раствор соляной кислоты (HCl), этанол, ацетонитрил и этилацетат. При исследовании особенностей поглощения веществом электромагнитного излучения в интервале длин волн 190-380 нм было установлено наличие 3 полос поглощения в электронных спектрах 2,4-Д. По максимальным показателям светопоглощения (при 285 нм) лучшим растворителем для снятия УФ-спектров и проведения экологического анализа оказался этанол.

В работе изучен способ идентификации 2,4-Д методом хроматографии в тонких слоях нормальнофазного и обращённофазного сорбента. Эксперименты проводили на пластинках «Сорбфил». Системы растворителей, представленные в таблице 2, подходят для определения 2,4-Д, но наиболее оптимальной была выбрана система гексан-диэтиловый эфир (6:4), применяемая в нормальнофазовой хроматографии. Процесс хроматографии в тонких слоях обращённофазового сорбента требует больше времени на выполнение эксперимента.

Таблица 2

Результаты хроматографирования в тонких слоях нормальнофазного и обращённофазного сорбента

Системы растворителей для нормальнофазовой ТСХ	Rf	Системы растворителей для обращённофазовой ТСХ	Rf
Хлороформ-ацетон (5:5)	0,925	Ацетон-буфер(2,87) 8:2	0,769
Гексан-ацетон (6:4)	0,300	Ацетон-буфер(2,87) 5:5	0,675
Гексан-диэтиловый эфир (5:5)	0,426	Диоксан-буфер(8,95) 2:8	0,747

Системы растворителей для нормальнофазовой ТСХ	Rf	Системы растворителей для обращеннофазовой ТСХ	Rf
Гексан-диэтиловый эфир (6:4)	0,547	Ацетон-буфер(8,95) 2:8	0,719
Гексан-пропанол (5:5)	0,413	Ацетон-буфер(8,95) 5:5	0,756
Гексан-диоксан (7:3)	0,285	Диоксан-буфер(8,95) 5:5	0,708
Хлороформ-ацетонитрил (7:3)	0,313	Диоксан-буфер(8,95) 8:2	0,933
Гексан-диоксан-пропанол-2 (15:5:1)	0,656	Этанол-вода 8:2	0,454

Для выделения исследуемого вещества из модельной смеси зерна с 2,4-Д проводили изолирование экстракцией. В качестве экстрагентов были рассмотрены следующие растворители: дистиллированная вода, 8% раствор уксусной кислоты, ледяная уксусная кислота, уксусный ангидрид, диметилформамид, этанол, диоксан, гексан, толуол, хлороформ, этилацетат, ацетонитрил.

При проведении экспериментов на модельной смеси было выявлено, что наибольшая степень извлечения исследуемого вещества достигается при использовании в качестве изолирующего агента этилацетата.

Были установлены оптимальные условия экстракции 2,4-Д этилацетатом: двукратное настаивание с массой экстрагента, которая как минимум в два раза превышает массу исследуемого биологического материала при продолжительности каждого настаивания 30 минут.

Для проведения количественного определения был построен градуировочный график зависимости оптической плотности растворов от различных концентраций 2,4-Д в этаноле. Для выявления содержания изучаемого вещества методом хроматоспектрофотометрии проводили исследования на модельных смесях, содержащих 10 г мелкоизмельченного зерна (ячменя, пшеницы, овса, кукурузы) и 2,4-Д в количествах от 1 до 20 г. Результаты, полученные для зерен ячменя, представлены в таблице 3. Максимальная относительная ошибка среднего результата составила 3,92% при проведении эксперимента на зерне кукурузы.

Таблица 3

Результаты определения 2,4-Д в 10г зерна ячменя при внесении различных количеств вещества в модельную смесь

Количество 2,4-Д, мг	\bar{X} , мг	Найдено, % (n=5, p=0,95)			
		\bar{X}	S	S _x	ΔX
1	0,905	90,50	3,09	1,38	3,84
2	1,830	91,51	2,70	1,21	3,36
5	4,607	92,09	2,59	1,16	3,22
10	9,271	92,71	3,29	1,47	3,79
20	18,402	92,41	1,92	0,86	2,38

Методика определения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в биологическом материале с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии

Эксперименты проводили на 10 г модельной смеси, состоящей из зерна ячменя и 2,4-Д, которую заливали 20 мл экстрагента (этилацетата) и выдерживали 30 минут. Извлечение отделяли, операцию настаивания повторяли. Объединенные извлечения испаряли в токе воздуха. Остаток обрабатывали ацетоном. Извлечение отделяли, а обработку остатка повторяли дважды. Отдельные ацетоновые извлечения объединяли в выпарительной чашке и испаряли растворитель. Остаток растворяли в хлороформе, экстрагировали дважды порциями буферного раствора с рН 10-11. Отдельные водно-щелочные экстракты отделяли от органической фазы, объединяли, подкисляли 24%-ым раствором хлороводородной кислоты до рН 2-3, насыщали хлоридом натрия и экстрагировали дважды этилацетатом. Этилацетатные извлечения отделяли от водной фазы, объединяли и пропускали через стеклянный фильтр со слоем безводного сульфата натрия. Фильтр дополнительно промывали этилацетатом. Фильтраты объединяли, упаривали до полного удаления растворителя.

Очистку полученного остатка проводили на хроматографической колонке с силикагелем (L 40/100 μ). Остаток растворяли в небольшом объеме смеси растворителей гексан - диэтиловый эфир в соотношении (6:4), данная система использовалась в качестве подвижной фазы при хроматографировании. Отдельные фракции элюата, которые содержали 2,4-Д, объединяли, упаривали до полного испарения растворителя. Остаток

растворяли в ацетонитриле, добавляли 0,025 М раствор дигидрофосфата калия. Для проведения ВЭХЖ применяли в качестве подвижной фазы ацетонитрил - дигидрофосфат калия в соотношении 1:1 по объёму. 20 мкл исследуемого раствора вводили в хроматограф типа «Alliance» фирмы «Waters» (колонка с обращённофазовым сорбентом «Symmetry C-18»). Оптическую плотность регистрировали при длине волны равной 239 нм. Пик на хроматограмме с временем удерживания 3,72 мин соответствует 2,4-Д, что можно использовать для качественного анализа при экологическом мониторинге.

Количественное содержание 2,4-Д определяли, исходя из площади хроматографического пика, по уравнению градуировочного графика, пересчитывали на навеску вещества, внесённую в зерно ячменя. График зависимости площади пика от концентрации определяемого вещества линеен в интервале 0,004-0,2 мкг. Уравнение градуировочного графика рассчитывали методом наименьших квадратов.

Результаты количественного определения 2,4-Д в зерне ячменя представлены в таблице 4. Разработанная методика позволяет определить в модельных смесях с зерном ячменя до 89,08-96,87% 2,4-Д от первоначально внесённого количества. Аналогичные эксперименты были проведены для овса и пшеницы.

Таблица 4

Результаты определения 2,4-Д в 10 г зерна ячменя при внесении 10 мг вещества в модельную смесь

№	% выделенного 2,4-Д	Метрологические характеристики, %
1	91,43	$\bar{x} = 92,90$ $S = 2,94$ $S_{\bar{x}} = 1,32$ $\Delta\bar{x} = 3,66$
2	89,08	
3	93,19	
4	93,94	
5	96,87	

ВЫВОДЫ

1. Изучение пестицидных препаратов, применяемых в сельском хозяйстве Курской области, позволило установить высокие объёмы гербицидов, сопоставимые лишь с фунгицидными препаратами. Средний

объём внесения гербицидов в почву – 261,2 тонны в год, что составляет 42,4% от всего объёма используемых ядохимикатов.

2. Установлено широкое применение в Курской области гербицидных препаратов на основе 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты (объём использования – около 50% от объёма всех вносимых в почву гербицидов). В результате ранжирования региона по уровню территориальных нагрузок гербицида были выделены экологически неблагоприятные районы, к которым отнесены Фатежский, Тимский, Черемисиновский, Щигровский, Советский, Медвенский и Обоянский. Территориальные нагрузки 2,4-Д для этих районов за период 2000-2010 годы в среднем составляют более 120 г/га.

3. Применение в регионе исследуемого гербицида повышает экологический риск развития болезней поджелудочной железы, а также болезней желчного пузыря и желчевыводящих путей среди детского населения региона с увеличением распространенности в 2,06 и 3,95 раза соответственно; у взрослых – гастритов и дуоденитов в 1,56 раза.

4. При разработке методик экологического мониторинга исследованы особенности поглощения УФ-излучения 2,4-дихлорфеноксисукусной кислотой в растворителях различной химической природы и хроматографическая подвижность в тонких слоях нормальнофазового и обращённофазового сорбента. Лучшим растворителем для снятия УФ-спектров оказался этанол, в качестве оптимальной подвижной фазы предложена система растворителей гексан – диэтиловый эфир в соотношении 6:4.

5. При разработке способов количественного определения 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты в зерне ярового ячменя сорта «Суздалец», мягкой яровой пшеницы сорта «Курская 2038», озимой пшеницы сорта «Московская 39», ржи сорта «Талловская 33», овса «Борец», кукурузы сорта «ПР39Г12» было показано, что наибольшая степень извлечения достигается при использовании этилацетата, который должен как минимум в два раза превышать массу исследуемого биологического материала. Для очистки извлечений предложены экстрагирование, фильтрация и колоночная хроматография.

6. Разработанные и запатентованные методики определения 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты отличаются экспрессностью и позволяют провести контроль зерновых культур на наличие остаточных количеств гербицида с высокой степенью точности, относительная ошибка среднего результата не превышает 3,92%.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Территориальные нагрузки гербицида фюзилад в агропромышленном комплексе Курской области / В.А. Королёв, О.Ю. Канунников, А.В. Ким, Т.Ф. Коропова, А.А. Алтухова, Н.Н. Лукьянчикова // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы развития современного общества». – М., 2010. – С. 257-258.
2. Территориальные нагрузки гербицидов в административных районах Курской области / В.А. Королёв, О.Ю. Канунников, А.В. Ким, Т.Ф. Коропова, А.А. Алтухова, Н.Н. Лукьянчикова // Мат-лы междунар. науч.-практич. конференции. «Актуальные проблемы развития современного общества» – М., 2010. – С. 253-254.
3. Объёмы использования гербицида 2,4-Д в агропромышленном комплексе Курской области / В.А. Королёв, В.К. Шорманов, А.А. Алтухова // X междунар. научно-практич. конференция «Экология и безопасность жизнедеятельности». – Пенза, 2010. – С. 92-95.
4. Территориальные нагрузки системного гербицида 2,4-Д в сельскохозяйственных районах Курской области / В.А. Королёв, В.К. Шорманов, Т.Ф. Коропова, А.А. Алтухова, Ю.Ю. Полевой // Материалы 4й международной телеконференции «Проблемы и перспективы современной науки». – Томск, 2011. – Том 3. – № 1. – С. 20.
5. Разработка условий изолирования 2,4-Д из зерна ячменя / В.А. Королёв, В.К. Шорманов, Т.Ф. Коропова, А.А. Алтухова, Е.В. Пистунович // VIII междунар. Научно-практич. конференция «Окружающая среда и здоровье». – Пенза, 2011. – С. 51-52
6. Пестицидная нагрузка 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты и экологический риск развития детской патологии / А.А. Алтухова, Т.Ф. Коропова, В.А. Королёв, В.К. Шорманов, Ю.Ю. Полевой // Материалы II Всероссийской научной конфер-и с междунар. уч-ем «Медико-биологические аспекты мультифакториальной патологии». – Курск, 2011. – С. 135-136.
7. Условия количественного определения гербицида 2,4-Д в зерне ячменя методом ВЭЖХ / В.А. Королёв, В.К. Шорманов, А.А. Алтухова, Т.Ф. Коропова // XI междунар. научно-практич. конференция «Экология и безопасность жизнедеятельности». – Пенза, 2011. – С. 90-91.
8. **Относительный экологический риск формирования акушерско-гинекологической патологии в условиях интенсивного применения гербицида 2,4-Д / В.А. Королёв, В.К. Шорманов, А.А. Алтухова, Т.Ф.**

Коропова // Проблемы региональной экологии. – 2012. – № 1. – С. 174-179.

9. Определение остаточных количеств гербицида 2,4-Д в зерне ячменя / В.А. Королёв, В.К. Шорманов, А.А. Алтухова, Т.Ф. Коропова // Проблемы региональной экологии. – 2012. – № 1. – С. 118-122.

10. Особенности хроматографической очистки экстрактов из зерна ячменя при количественном определении гербицида 2,4-Д / В.А. Королёв, В.К. Шорманов, А.А. Алтухова, Т.Ф. Коропова // Мат-лы VI Всероссийск. науч.-практич. конференции молодых ученых-медиков. – Казань: ИД «Меддок»: КГМУ, 2012. – С. 24-25.

11. Относительный экологический риск формирования детской патологии в условиях интенсивного применения гербицида 2,4-Д / В.А. Королёв, А.А. Алтухова, Н.Е. Кирищева, Е.В. Пистунович, Т.Ф. Коропова // Здоровье населения и среда обитания. – 2012. – № 3. – С. 30-32.

12. Методологические подходы к оценке экологического риска применения пестицидов / В.А. Королёв, А.А. Алтухова, Д.И. Данилкин и др // Материалы III Всероссийской научной конференции с международным участием «Экологический риск и экологическая безопасность». – Иркутск, 2012. – Том 1. – С. 95-96.

13. Детская патология как индикатор экологического неблагополучия Курского региона // В.А. Королёв, А.А. Алтухова, Н.Е. Кирищева // Мат-лы IV Междунар. науч.-практич. конф-и «Актуальные проблемы экологии и охраны труда». – Курск: ЮЗГУ, 2012. – С. 86-90.

14. Спектрофотометрическое определение стандартного образца 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты / Г.Г. Янголенко, В.К. Шорманов, Т.Ф. Коропова, А.А. Алтухова // Сборник мат-лов V Всерос. конф-ции с международ. участием: БИОМЕДИЦИНСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ. – Курск, 2012. – С. 114-117.

15. Технология эколого-аналитического контроля содержания остаточных количеств гербицида 2,4-Д в зерне пшеницы / В.А. Королёв, В.К. Шорманов, А.А. Алтухова, Н.Е. Кирищева, Е.В. Пистунович, В.В. Юшин // ИЗВЕСТИЯ Юго-Западного университета, Серия ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ. – Курск, 2012. – Часть 2. – № 2. – С. 139-144.

16. ПАТЕНТ № 2453848 РФ МПК⁵¹ G01N 33/50 (2006.01) Способ определения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в биологическом материале / В.К. Шорманов, В.А. Королёв, Т.Ф. Коропова, А.А.

Алтухова; патентообладатель: ГОУ ВПО КГМУ МИНЗДРАВА РФ; заявл. 05.04.2011, № 2011113154/13, опубл. 20.06.2012, Бюл. №17. – 9 с.

17. Количественное определение основного метаболита 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты – 2,4-дихлорфенола – на основе поглощения в среде этанола / Т.Ф. Коропова, Г.Г. Янголенко, В.К. Шорманов, А.А. Алтухова // Материалы итоговой научной конференции сотрудников КГМУ, Центрально-Чернозёмного научного центра РАМН и отделения РАЕН, посвященной 78-летию КГМУ: УНИВЕРСИТЕТСКАЯ НАУКА: ВЗГЛЯД В БУДУЩЕЕ. – Курск, 2013. – Т. 2 – С. 79-82.

18. Контроль содержания остаточных количеств гербицида 2,4-Д в зерне овса / В.А. Королёв, В.К. Шорманов, А.А. Алтухова, Н.Е. Кирищева, С.С. Прокопов // ИЗВЕСТИЯ Юго-Западного университета, Серия ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ. – Курск, 2013. – № 1. – С. 139-144.

19. Распространённость язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки среди взрослого населения Курской области / В.А. Королёв, Н.Е. Кирищева, А.А. Алтухова, Е.С. Никитина // Мат-лы Всерос. науч.-практ. конф-и «Медико-биологические аспекты здоровья человека». – Тамбов, 2012 г. – С.49-50.

20. Относительный экологический риск формирования патологии желудочно-кишечного тракта среди детского населения Курского региона в условиях интенсивного использования гербицида 2,4-Д / В.А. Королёв, Ю.Д. Ляшев, Н.Е. Кирищева, А.А. Алтухова, С.С. Прокопов // Всероссийская дистанционная интернет-конференция с международным участием «Окружающая среда и здоровье населения». – Курск, 2014. – С.7

Примечание: жирным шрифтом выделены публикации в журналах перечня ВАК

Алтухова Анна Александровна (Россия)

«Эколого-аналитическое исследование 2,4-дихлорфеноксисуксной кислоты»

В диссертации рассмотрен широко используемый гербицид 2,4-Д, изучены объёмы применения в районах Курской области за период с 2000 по 2010 гг. и выделены неблагоприятные районы с высоким уровнем применения 2,4-Д. Рассчитаны экологические риски возникновения заболеваний в условиях наиболее интенсивного применения изучаемого гербицида. Как известно из литературных источников 2,4-Д способен оказывать токсическое воздействие на живые организмы, есть вероятность сохранения его в продуктах переработки сельскохозяйственных культур. В работе для идентификации и количественного определения гербицида в объектах окружающей среды автором были рассмотрены методы спектрофотометрии, тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Разработанные методики определения 2,4-Д в биоматериале характеризуются более высокой точностью и быстротой выполнения по сравнению с существующими.

Altukhova, Anna Aleksandrovna (Russia)

«Ecological analytical research of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid»

The thesis considers a widely used herbicide 2,4-D, investigating the volume of application in the areas of Kursk region for the period from 2000 to 2010, and determining adverse areas with a high level of application of 2,4-D. Environmental risks of diseases in the context of the most intensive use of the studied herbicide have been calculated. As we know from the literature 2,4-D can have toxic effects on organisms, there is a possibility of its accumulation in the products of agricultural crops processing. For identification and quantification of herbicide in environmental objects the author examined methods of spectrophotometry, thin-layer chromatography and high performance liquid chromatography in this work. The developed methods of determination of 2,4-D in the biomaterial are characterized by high accuracy and speed of execution over the existing ones.

