

ОСНОВНІ ПУБЛІКАЦІЇ

УДК 543.544.4

О. М. КОРШУН, Т. В. ГИРЕНКО

СЕЛЕКТИВНОЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАМЕЩЕННЫХ ФЕНИЛМОЧЕВИН

Вивчено умови хроматографічного розділення заміщених сечовин (дифлу-бензуруну, новалуруну, люфенуруну) методами високоефективної рідинної та тонкошарової хроматографії. Проведено порівняльну оцінку рухомості сполук, що вивчаються, на пластинках „Силуфол” та „Сорбфіл” в ідентичних умовах.

Parameters of chromatographic separation of substituted phenylurea by HPLC and TLC method were studied. Also the limits of detection of pesticides were determined. The comparative estimation of compounds movability, which are studied on the plates “Siluphol” and “Sorbphil” under identical conditions was carried out.

Замещенные фенилмочевины широко применяются в агропромышленном комплексе и ассортимент препаратов на их основе постоянно расширяется и обновляется [1]. В связи с этим возникает необходимость в совершенствовании и разработке методик определения остаточных количеств этих соединений, обеспечивающих контроль гигиенических нормативов.

Анализ фенилмочевин представляет определенные сложности [2, 3]. Использование метода газожидкостной хроматографии (ГЖХ) для прямого определения фенилмочевин ограничено их термической нестабильностью и низкой чувствительностью селективных детекторов по отношению к многим из них. Регистрируемые при этом хроматографические пики принадлежат продуктам термического разложения – арилизоцианатам. Описана идентификация по стандартам анилина и бензамида. Характерно, что продукты разложения имеют близкое время удерживания и хроматографические пики часто перекрываются пиком растворителя. Для получения воспроизводимых результатов требуется предварительное насыщение колонки.

Многие методики определения фенилзамещенных мочевины основаны на образовании химических производных с целью увеличения термической стабильности, повышения чувствительности детектирования, улучшения хроматографических параметров. Наиболее широко используется превращение фенилмочевин в ароматические амины с последующим хроматографированием их в виде полифторацилпроизводных. При этом фенилмочевин, содержащие одинаковый анилиновый фрагмент, дают одинаковые производные, поэтому для идентификации необходимо привлекать дополнительные сведения.

При использовании адсорбционной тонкослойной хроматографии было показано, что подвижность фенилмочевин в слое силикагеля практически одинакова и дает близкие величины R_f .

Более эффективное разделение некоторых фенилмочевин было достигнуто в условиях распределительной тонкослойной хроматографии (РТСХ).

В последнее время для определения фенилмочевин находит применение высокоэффективная жидкостная хроматография с использованием УФ- и масс-спектрометрических детекторов [4–6].

В этих публикациях основной задачей являлось определение индивидуальных соединений.

Таким образом, вопрос разделения и определения фенилмочевин остается актуальным и в настоящее время.

Цель настоящей работы – определение оптимальных условий хроматографирования, позволяющих избирательно определять некоторые фенилмочевин при совместном присутствии.

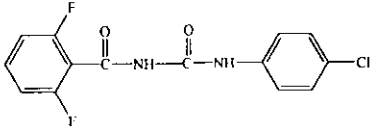
Для решения задачи использованы методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и тонкослойной (плоскостной) хроматографии в адсорбционном и распределительном вариантах (АТСХ, РТСХ).

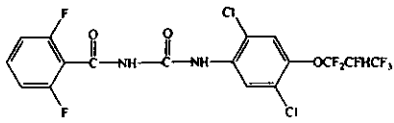
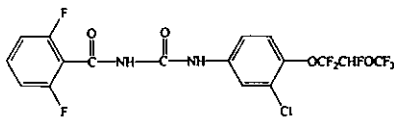
Методика эксперимента

Физико-химические свойства изучаемых соединений (чистота стандартов 99,4–99,8 %) приведены в таблице 1.

Таблица 1

Физико-химические свойства анализируемых соединений

Пестицид	Структурная формула	Молекулярная масса	Растворимость в органических растворителях и воде, г/л
1. Дифлубензурон		310,7	Диметилформамид – 104, ацетон – 6,5, метанол – 1, вода – 0,00008

Пестицид	Структурная формула	Молекулярная масса	Растворимость в органических растворителях, воде, г/л
2. Люфенурон		511,2	Ацетон – 460, толуол – 72, этанол – 41, гексан – 0,13, вода – 0,00006, н-октанол – 8,9
3. Новалурон		492,8	Ацетон – 198, етилацетат – 113, метанол – 14,5, ксилол – 1,88, н-октанол – 0,98, н-гептан – 0,0084

Растворы готовили в ацетонитриле и ацетоне с концентрацией 10–0,1 мкг/мл.

Хроматографирование в условиях ВЭЖХ проведено на хроматографе «Shimadzu LC-10A» с УФ-детектором в интервале длины волны 252–295 нм. Колонка (25 мм × 4,6 мм) – Nucleosil C₁₈. Подвижная фаза – метанол-вода. Скорость потока – 1 мл/мин.

Хроматографирование в тонком слое проведено на пластинках для тонкослойной хроматографии «Сорбфил» ПТСХ-АФ-А-УФ (тип сорбента – силикагель СТХ-1А, зернение 5–17 мкм, толщина слоя – 110 мкм; связующее – силиказол) производства АО «Сорбполимер», Краснодар, РФ.

Параллельно проводили хроматографирование растворов на пластинках «Силуфол UV-254» (широкопористый силикагель по Питри, связующее вещество – крахмал) производства Ла Хема, Чехословакия.

Разделение в условиях РТСХ проводили на пластинках, импрегнированных вазелиновым маслом.

Хроматографическое поведение в смесях растворителей изучали путем построения диаграммы состав – свойство, позволяющих характеризовать подвижность соединений (*R_f*) в слое сорбента в некотором определенном интервале концентраций компонентов, составляющих подвижную фазу.

Соотношение компонентов подвижной фазы на диаграмме выражали соответствующим значением диэлектрической проницаемости смеси ($\epsilon_{\text{общ}}$), которая была рассчитана, как сумма диэлектрических проницаемостей отдельных компонентов с учетом их концентрации в смеси.

Результаты и обсуждение

При экспериментальном скрининге оптимальных параметров хроматографического разделения выбирали условия, которые позволяли разделить компоненты между собой.

В условиях ВЭЖХ оптимальное разделение ($K_{раз}$ 0,85–0,9) достигнуто при использовании подвижной фазы метанол – вода (78–22, об.+об.). При скорости потока подвижной фазы 1 мл/мин время удерживания составляет: дифлубензурон – 4,9–5,1 мин; новалурон – 7,0–7,3 мин; люфенурон – 11,0–11,5 мин. При этом наблюдается изменение величины времени удерживания от молекулярной массы разделяемых компонентов (рис. 1).

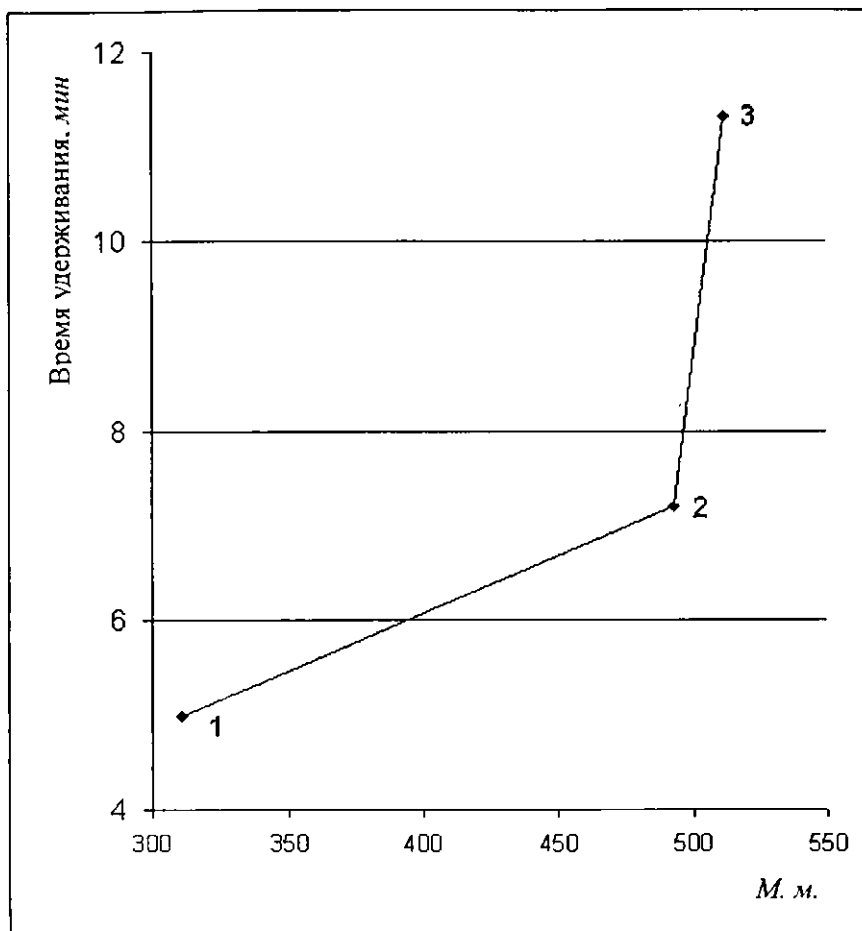


Рис. 1. Зависимость времени удерживания фенолмочевин от молекулярной массы:

1 - дифлубензурон; 2 - новалурон; 3 - люфенурон

Для определения оптимального максимума поглощения для смеси моче-
вин было проведено хроматографирование каждого компонента с одинако-
вой концентрацией в растворе, с детектированием при различных длинах
волн (рис. 2), построены градуировочные графики, рассчитаны рабочие ха-
рактеристики (рис. 3). Из полученных данных следует, что пределы опреде-
ления исследуемых соединений значительно ниже при длине волны 252 нм.
Однако при хроматографировании некоторых экстрактов производственных
проб коэкстрактивные вещества из матриц затрудняли идентификацию ана-
лизируемого пестицида при этой длине волны. Поэтому в дальнейшем при
анализе конкретного вещества и пробы выбирали наиболее оптимальный
максимум поглощения (252 или 295 нм).

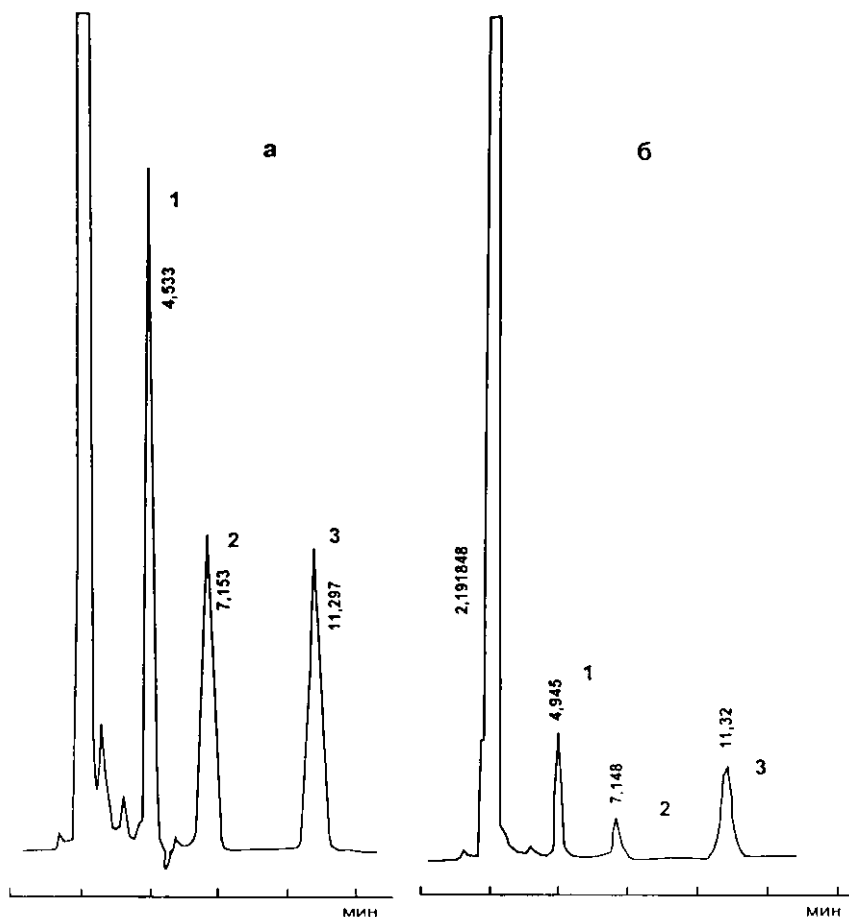


Рис. 2. Хроматограммы стандартного раствора смеси

а – $\lambda = 252$ нм; **б** – $\lambda = 295$ нм;

1 – дифлубензурон;

2 – новалурон;

3 – люфенурон.

Концентрация веществ – по 1 мкг/мл

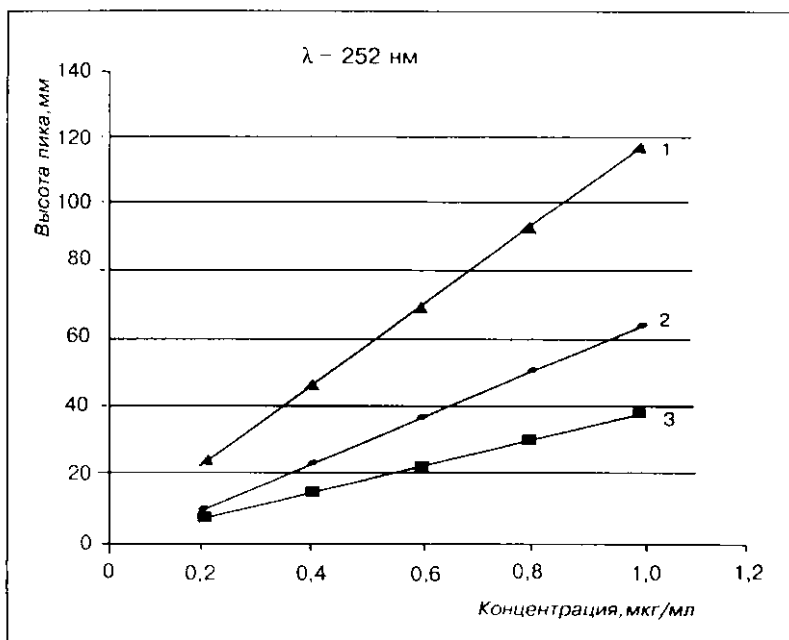
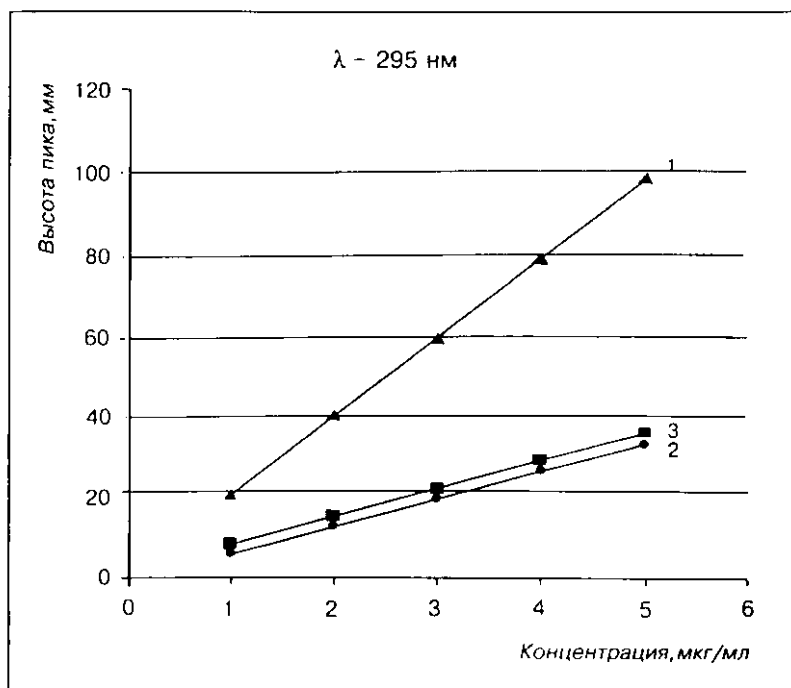


Рис. 3. Градуировочный график:
 1 – дифлubenзурон; 2 – ноналурон; 3 – люфенурон

Подвижность изучаемых соединений в тонком слое силикагеля изучена на примере разделения в системе гексан – ацетон и представлена в виде соответствующих диаграмм (рис. 4).

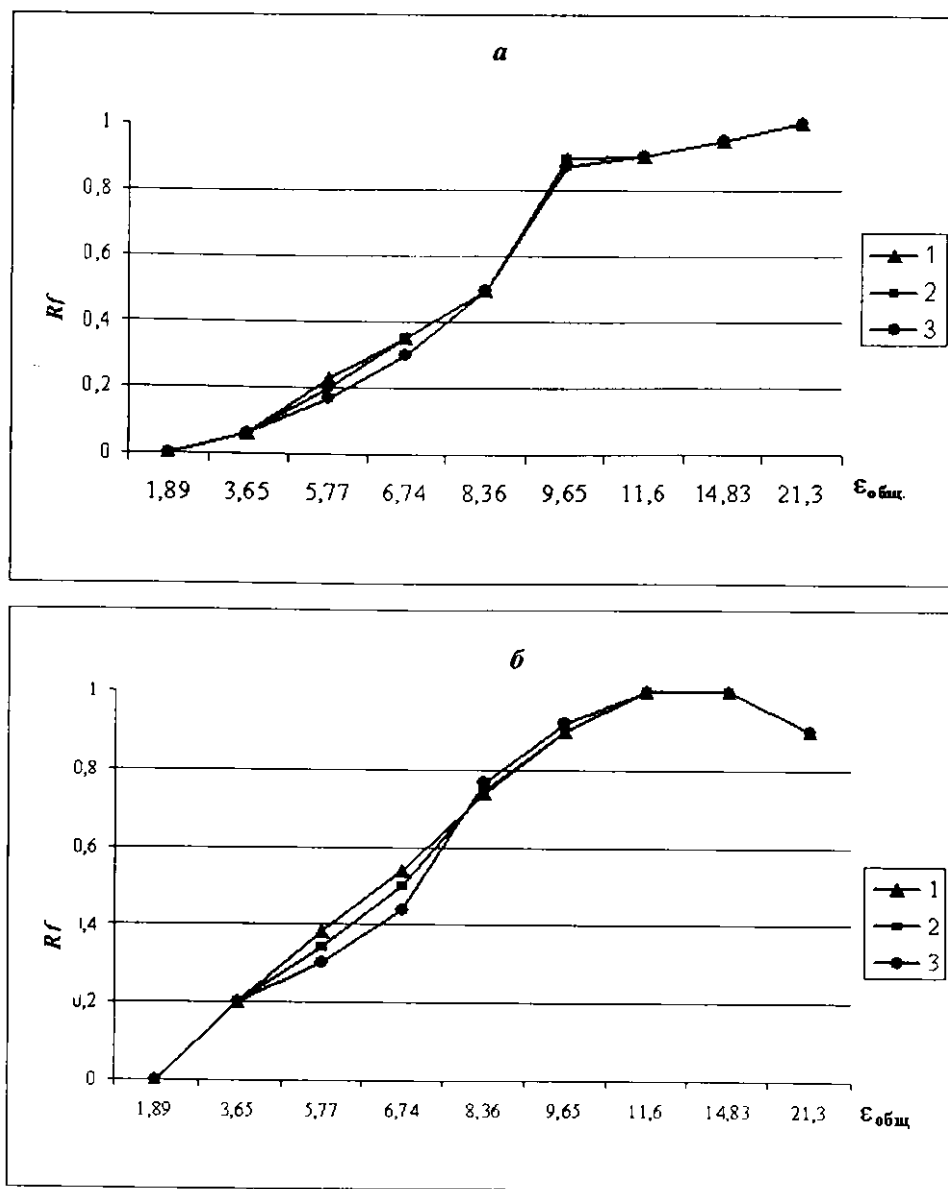


Рис. 4. Подвижность фенолмочевин в серии растворов гексан-ацетон (АТСХ):
а – пластинка «Силуфол»; **б** – пластинка «Сорбфил»;
 1 – дифлубензурон; 2 – новалурон; 3 – люфенурон

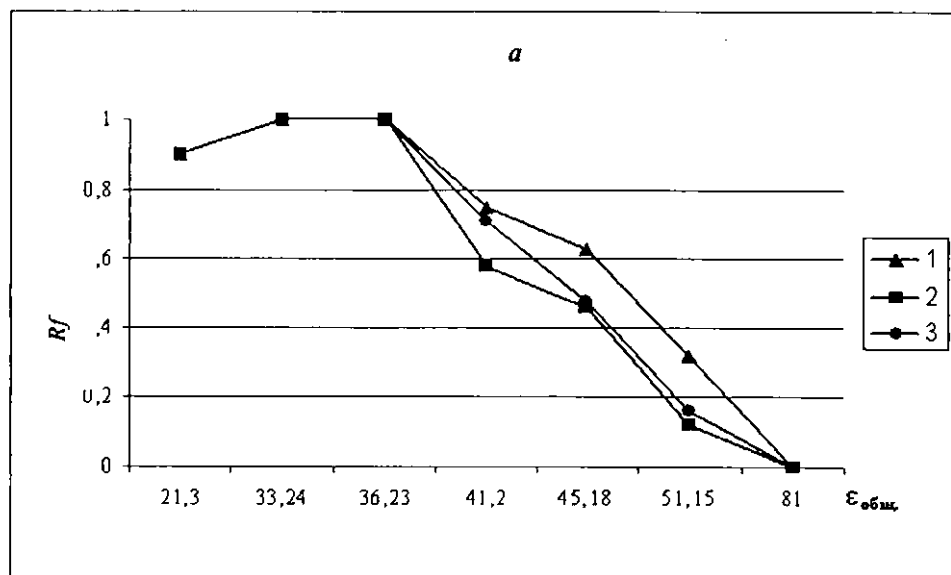
Полученные данные показывают, что в условиях адсорбционной хроматографии, несмотря на различия в типах пластинок «Силуфол» и «Сорбфил» и широкий интервал использованных смесей подвижных растворителей, разделение компонентов не достигнуто.

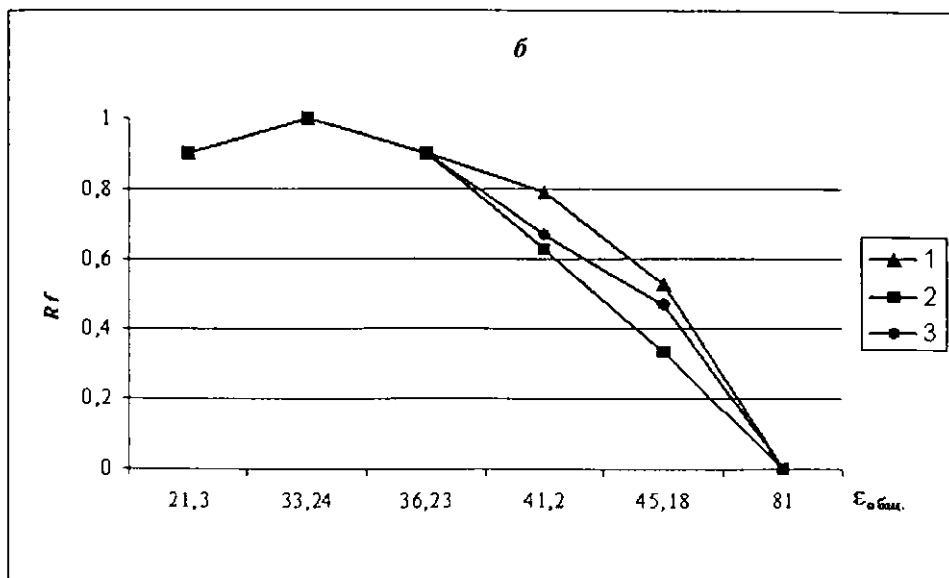
Известно, что подвижность производных мочевины в слое силикагеля в значительной степени определяется заместителями в бензольном кольце. В частности, введение электроотрицательных атомов и групп приводит к уменьшению электронной плотности на атоме азота и уменьшению взаимодействия с сорбентом. В нашем случае заместители (Cl , F_2), имеющиеся в молекулах анализируемых веществ, проявляют одинаковый – I-эффект и обуславливают практически одинаковую подвижность в слое силикагеля.

В распределительной тонкослойной хроматографии на хроматографическое поведение веществ в значительной степени влияет подвижная фаза.

При уменьшении содержания ацетона в подвижной фазе величина R_f уменьшается, что свидетельствует о том, что взаимодействие веществ с подвижным растворителем уменьшается с уменьшением доли неводного компонента. Некоторое уменьшение величины R_f может быть связано с усилением дисперсного взаимодействия с вазелиновым маслом.

Хроматографирование в системе ацетон – вода позволило разделить исследуемую смесь веществ (рис. 5). Наиболее оптимальной системой для разделения как на пластинках «Силуфол», так и «Сорбфил», является подвижная фаза ацетон – вода (2+1).





**Рис. 5. Подвижность фенилмочевин в серии растворов
ацетон – вода (РТСХ):**

а – пластинка «Силуфол»; *б* – пластинка «Сорбфил»;

1 – дифлубензурон; 2 – новалурон; 3 – люфенурон

Следует остановиться на проблеме идентификации фенилмочевин при использовании метода ТСХ. Перечень детектирующих реагентов в данном случае крайне ограничен [7]. Сделана попытка идентификации фенилмочевин с помощью использования в качестве аналитического реагента *n*-диметиламинокоричного альдегида, модифицированного анионными поверхностно-активными веществами линейного строения с длиной углеводородного радикала C10 – C16 [8].

Самым распространенным способом обнаружения фенилмочевин является термическое разложение препаратов до ароматических аминов, диазотирования и азосочетания двумя способами: α -нафтолом либо N-(1-нафтил)этилендиамином.

Однако при поведении реакции азосочетания способом с α -нафтолом на пластинках «Сорбфил» в условиях АТСХ и РТСХ цветообразования анализируемых веществ не наблюдалось. Вероятнее всего, это обусловлено составом сорбционной массы, являющейся основой пластинок «Сорбфил». Нами был разработан способ активации пластинок раствором серной кислоты для последующего проведения реакции азосочетания.

При хроматографировании каждого отдельного компонента на пластинках «Силуфол» и «Сорбфил» в условиях адсорбционной хроматографии пределы детектирования отличались незначительно и составляли: дифлубензурон – 0,2 мкг (ярко-красное окрашивание); новалурон – 0,5 мкг (оранжево-красное); люфенурон – 1 мкг (желто-оранжевое).

Пределы детектирования при использовании распределительной хроматографии для всех компонентов были выше (2–5 мкг).

На основе проведенных исследований установлены оптимальные условия хроматографирования, которые были положены в основу методик определения остаточных количеств люфенурина и новалурона в объектах окружающей среды (воздухе, воде, почве) и сельскохозяйственных культурах.

Выводы

Разработаны оптимальные условия разделения дифлубензурина, люфенурина и новалурона с применением методов высокоэффективной жидкостной и распределительной тонкослойной хроматографии.

Список литературы

1. Мельников Н. Н. Пестициды и окружающая среда. Производные мочевины. // Агрохимия. – 1993. – № 6. – С.109–121.
2. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: Справочник. – Т.2 / Сост. Клисенко М. А., Калинина А. А., Новикова К. Ф. и др. – М.: Агропромиздат, 1992. – 410 с.
3. Aikens P. I., Shaw D., Gur E. // Fate and behaviour of novaluron in aquatic system. Abstr. X Intern. Congres Pest. Chem. IUPAC, Basel, 2002. – Basel, 2002-5a.31.
4. Brewin S., Tate S., Munro S., Todd M. // Use of LC-MS to enable the routine screening novaluron in apples, potatoes, soil and Water. Abstr. X Intern. Congress Pest. Chem. IUPAC, Basel, 2002. – Basel, 2002-6a.4.
5. Коршун О. М., Пушков Д. Г., Гиренко Д. Б. Хроматографический анализ новых препаратов из группы фенилмочевин // Тези допов. Перший Міжнародний симпозіум „Методи хімічного аналізу”. Збірка тез доповідей. Київ: 2002. – 25 с.
6. Джиянбаева Р. Х., Торянникова Р. В. Раздельное определение которана, пропанида, севина, ТМТД при совместном присутствии методом ВЭЖХ в природной воде // Тезисы докладов V Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика–2003». СПб, 2003. – С. 2–43.
7. Клисенко М. А., Александрова Л. Г. Определение остаточных количеств пестицидов. – Киев: Здоров'я. – 1983. – С. 248.
8. Гусакова Н. Н., Чернова Р. К. Экспрессные способы аналитической диагностики производных ароматических мочевины в объектах окружающей среды // Тезисы докладов V Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика–2003». Санкт-Петербург, 2003 – С. 1–24.

Научный лабораторный Гигиенический центр
Национального медицинского университета
г. Киев, пр. Правды, 34,
e-mail: monday@nbi.com.ua

Получено 24.03.04.