

УДК 543.544

*Т.В. ГИРЕНКО, С.Т. ОМЕЛЬЧУК, Д.Б. ГИРЕНКО*

## **ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ ЗАМЕЩЕННЫХ ТРИАЗОЛОВ**

*Вивчена можливість розподілу суміші триазолів методом ГРХ на набивній та капілярній колонках. Проведена порівняльна оцінка ефективності розподілу триазолів в однакових умовах на пластинках "Силуфол" та "Сорбфіл"*

*Изучена возможность разделения смеси триазолов методом ГЖХ на набивной и капиллярной колонках. Приведена сравнительная оценка эффективности разделения триазолов в одинаковых условиях на пластинках Силуфол" и "Сорбфил".*

*Possibility of separation some triazoles by method GLC on packed and capillary columns were study. Comparative investigation of separation triazoles at identical condition by TLC were made.*

Замещенные триазолы широко применяются в агропромышленном комплексе в качестве фунгицидов, и ассортимент их постоянно расширяется. В связи с этим остается актуальным вопрос разработки и совершенствования методов определения остаточных количеств триазолов в объектах окружающей среды, сельскохозяйственном сырье, продуктах питания, биологических средах, позволяющих контролировать гигиенические нормативы. Опубликованы многочисленные работы по определению индивидуальных триазолов в различных объектах. В этих работах рассматриваются вопросы подготовки проб; очистки экстрактов; идентификации и количественного их определения с помощью хроматографических методов [1-5]. Вместе с тем, в настоящее время становится актуальной задачей раздельного определения нескольких триазолов в одной пробе, поскольку наблюдается тенденция применения смесевых препаратов на основе триазолов, или индивидуальных триазолов на нескольких культурах в одном регионе. В этих случаях возможно их одновременное поступление в почву, воду, сельхозпродукцию. Решение проблемы определения смеси триазолов должно идти в нескольких направлениях, одним из которых является разработка параметров хроматографического разделения соединений этой химической группы.

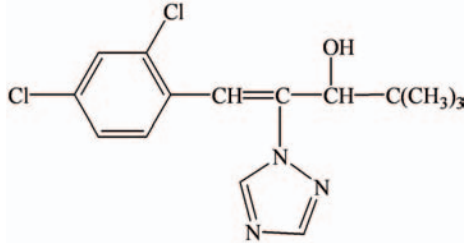
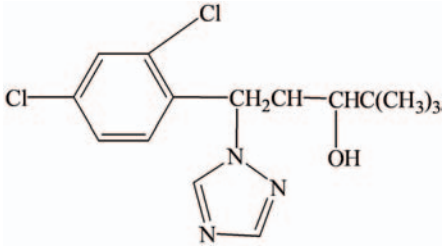
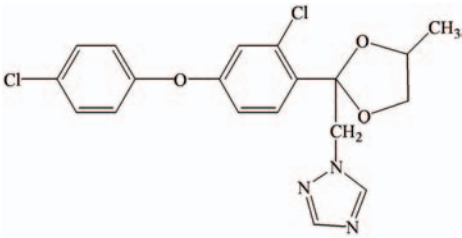
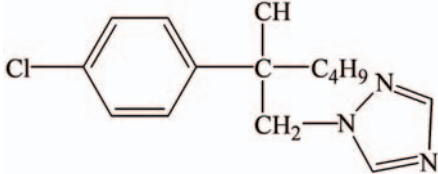
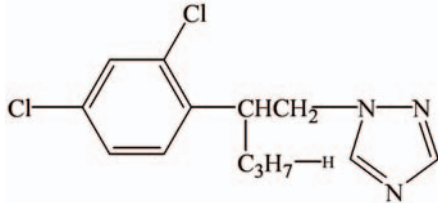
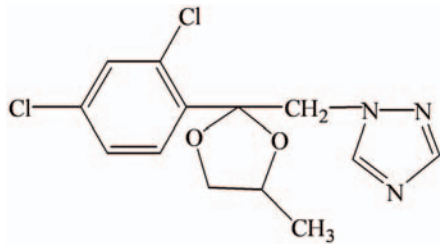
Целью данной работы является определение условий хроматографирования, позволяющих разделить смеси замещенных триазолов, используя методы газожидкостной и тонкослойной (плоскостной) хроматографии.

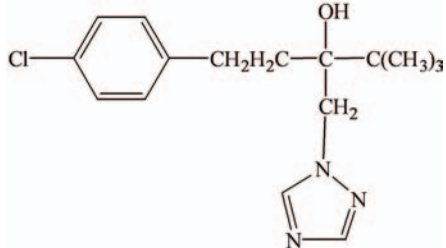
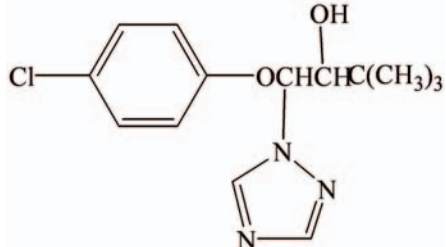
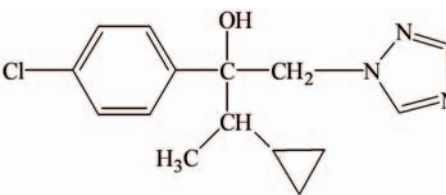
### **Методика эксперимента**

Физико-химические свойства изучаемых соединений (чистота стандартов 96,2–99,8%) приведены в таблице 1.

Таблица 1

## Физико-химические свойства анализируемых соединений

Пестицид	Структурная формула	Молекулярная масса	Растворимость в органических растворителях и воде, г/л
Диниконазол		326,03	Ацетон – 117; метанол – 92; хлороформ – 161; гексан – 0,7; вода – 0,004
Дихлорбутразол		328,3	Ацетон, метанол, хлороформ – 50-100; вода – 0,009
Дифеноконазол	 цис, транс - 45:55	406,27	Ацетон – 610; этанол – 330; гексан – 0,0034; вода – 0,016
Миклобутанил		288,5	Ацетон, этанол – 100; вода – 0,142
Пенконазол		284,19	Ацетон – 770; этанол – 730; гексан – 22,0; вода – 0,07
Пропиконазол	 (±) смесь стереоизомеров	342,2	Вода – 0,11; хорошо растворим в органических растворителях

Тебуконазол		307,8	ДХМ – 200-500, толуол – 50-100, гексан – 0,1 вода – 0,03
Триадименол		295,8	Толуол – 40, ДХМ – 100, пропанол – 150, вода 0,12
Ципроокназол		291,8	Ацетон – 230, этанол – 230; вода 0,14
	смесь диастереоизомеров ≈ 1:1		

Растворы исследуемых триазолов готовили в ацетоне с концентрацией 0,2–2,0 мкг/мл.

Условия хроматографирования: Хроматограф "Кристалюкс 4000" с электрозахватным детектором. Набивная колонка – 5% SE – 30,1 м x 3 мм; капиллярная колонка – Zebtron ZB-1, 30 м x 0,32 мм x 0,5 мкм, неподвижная фаза – 100% метилполисилоксан.

Температурные параметры: колонка – 220 °С; испаритель – 250 °С; детектор – 300 °С.

Хроматографирование изучаемых соединений в тонком слое проведено на пластинках для тонкослойной хроматографии "Сорбфил" ПТСХ-АФА-А-УФ (тип сорбента – силикагель СТХ-1А, зёрнение 5-17 мкм, толщина слоя – 110 мкм; связующее – силиказоль).

Параллельно проводили хроматографирование растворов тех же веществ на пластинках "Силуфол UV – 254" (широкопористый силикагель по Питри; связующее вещество – крахмал).

Известно, что хроматографическое поведение пестицидов в тонком слое сорбента определяется многими факторами (тип сорбента; структура анализируемого вещества; природа подвижного растворителя и др.). Значительное влияние на механизм хроматографирования оказывают растворители, используемые в качестве подвижной фазы, и которые в дальнейшем определяют характер взаимодействия молекулы вещества с сорбатом и адсорбентом.

Эффективность разделения анализируемых триазолов в слое сорбента была изучена в смеси растворителей хлороформ-ацетон в различном интервале концентраций компонентов, составляющих подвижную фазу.

## Результаты и обсуждение

В большинстве опубликованных методик [6,7] температура термостата колонок при газохроматографическом анализе замещенных триазолов варьировалась в пределах 180 °С – 250 °С и детектирование было проведено с использованием термoионного детектора.

Разделение изучаемой смеси триазолов на набивной и капиллярной колонке нами проведено при температуре 220 °С и использовании электрозахватного детектора.

При установленной температуре колонки (220 °С) анализируемые соединения элюировались в виде симметричных пиков. Анализ данных, приведенных в таблице 2, показывает, что ряд веществ имеет близкое время удерживания и не разделяются при данных условиях хроматографирования.

Таблица 2

Время удерживания ( $t_{уд.}$ , мин.) анализируемых триазолов

Пестицид	$t_{уд.}$ , мин.	
	набивная колонка	капиллярная колонка
Пенконазол	2,08	7,5
Триадименол	2,1	7,7
Миклбутанил	3,10	10,2
Дихлбутразол	3,11	10,6
Ципроконазол	3,55	12,2
Диниконазол	3,62	12,14
Пропиконазол	4,67	14,8 15,3
Тебуконазол	5,4	14,3

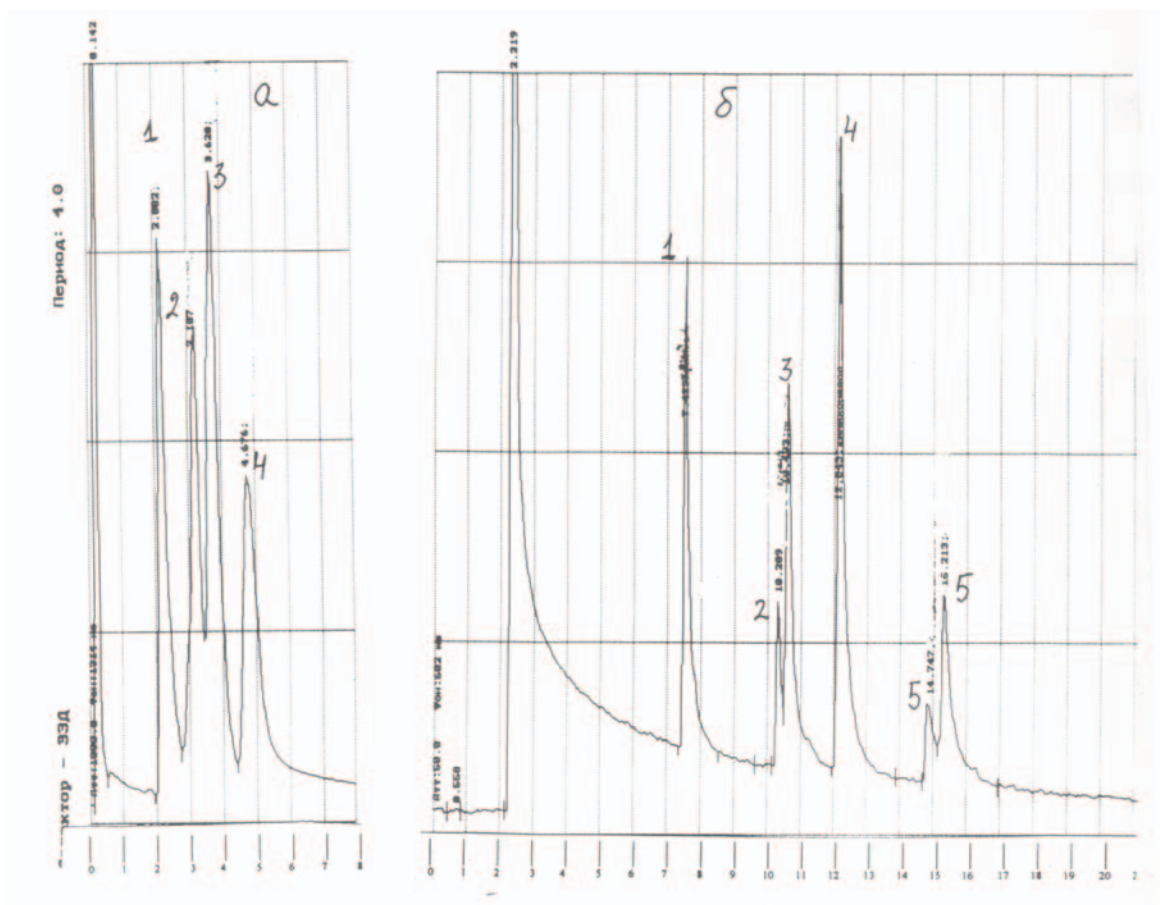
Следует отметить, что при температуре колонки 220 °С пик дифеноконазола был размытый, без четкого формирования, что обусловлено низкой температурой хроматографирования этого соединения (обычно анализ дифеноконазола проводится при температуре 250 °С).

С тем, чтобы разделить и идентифицировать компоненты, элюирующиеся совместно, хроматографировали смеси в различных комбинациях.

На рис. 1, в качестве примера, приведены хроматограммы, полученные при разделении смесей триазолов на набивной и капиллярных колонках.

На набивной колонке (рис. 1 а) возможно разделение смеси 4 веществ (триадименол, дихлбутразол, диниконазол, пропиконазол) или другой смеси (пенконазол, миклбутанил, ципроконазол, пропиконазол).

При хроматографировании смеси из 7 компонентов на набивной колонке на хроматограмме регистрируются 4 пика: отделяется пропиконазол, а 3 последующих соответствуют следующим неразделившимся парам: триадименол + пенконазол; дихлбутразол + миклбутанил; диниконазол + ципроконазол.



**Рис. 1** Хроматограммы стандартных растворов смесей триазолов, полученные методом газожидкостной хроматографии с использованием набивной (а) и капиллярной (б) колонок

- а* – Хроматограмма стандартного раствора смеси (набивная колонка):  
 1 – триадименол; 2 – дихлбутразол; 3 – диниконазол; 4 – пропиконазол.
- б* – Хроматограмма стандартного раствора смеси (капиллярная колонка):  
 1 – триадименол; 2 – миклбутанил; 3 – дихлбутразол; 4 – диниконазол;  
 5 – пропиконазол (изомеры).

На капиллярной колонке (рис. 1б) происходит разделение смеси из 5 компонентов (триадименол, миклбутанил, дихлбутразол, диниконазол, пропиконазол), при этом наблюдается разделение изомеров пропиконазола.

При хроматографировании в аналогичных условиях смеси из 7 компонентов, пенконазол и триадименол, а также диниконазол и ципроконазол, элюируются в виде неразделенных пиков.

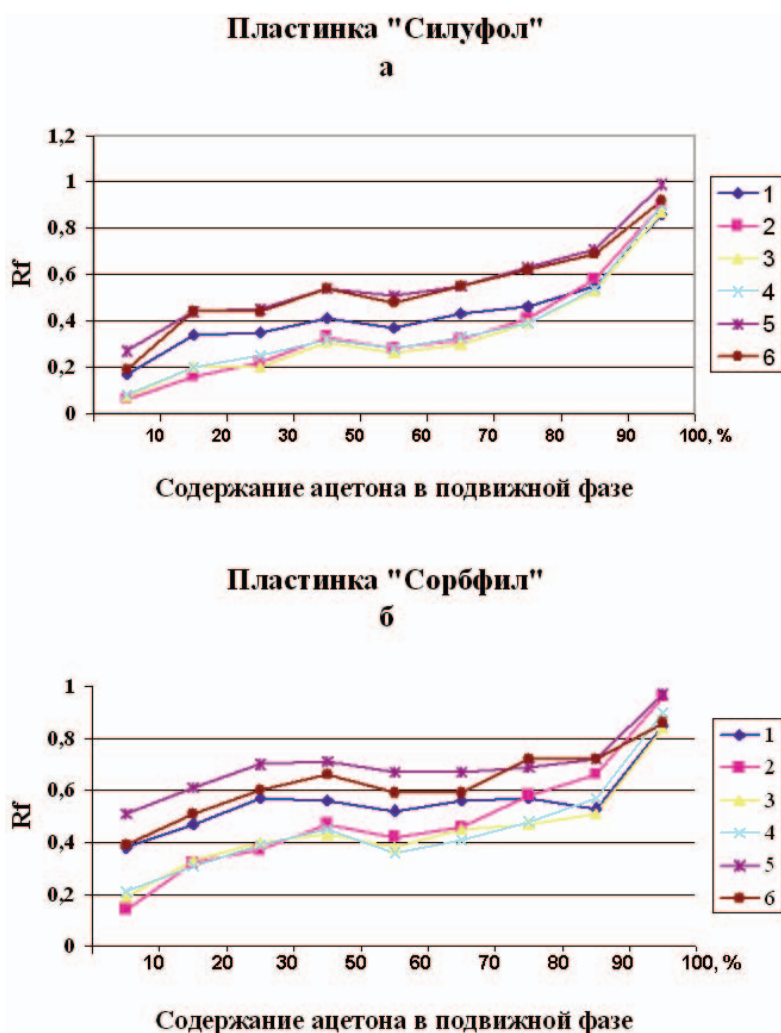
Полученные данные показывают, что при использованных условиях хроматографирования не достигнуто полного разделения смеси изучаемых пестицидов, как на набивной, так и капиллярной колонках.

Вместе с тем, следует отметить практическое значение проведенных исследований. В частности, до настоящего времени в практике проводится индивидуальное хроматографирование ципроконазола и пропиконазола. Нами показано, что на набивной и капиллярной колонке возможно разделение наиболее важной пары веществ (ципроконазола и пропиконазола), являющихся действующими веществами препарата Альто-Супер 330 ЕС.

Тонкослойная хроматография остается незаменимым инструментом в скрининговых исследованиях для идентификации органических соединений [8,9]. Этот метод нашел широкое распространение и для определения микроколичеств замещенных триазолов в различных объектах с использованием универсальных реагентов для детектирования вещества [6,7]. В качестве подвижной фазы использовались смеси гексан-ацетон и хлороформ-ацетон.

Для детектирования анализируемых соединений в слое сорбента был использован реактив на основе бромфенолового синего и нитрата серебра в присутствии аммиака. Данный реагент используют для обнаружения органических соединений, содержащих донорные атомы кислорода, серы, азота [10]. За счет неподеленной пары электронов у атома азота в молекулах исследуемых веществ происходит образование малорастворимой соли, в которой катион-комплекс серебра с нейтральной органической молекулой, а анион – бромфеноловый синий. Предел обнаружения на пластинке (ярко-голубое окрашивание) составляет – 0,5-1 мкг.

Подвижность изучаемых соединений (величина Rf) в слое силикагеля изучена на примере разделения в подвижной фазе (хлороформ-ацетон) и представлена в виде соответствующих диаграмм (рис. 2).



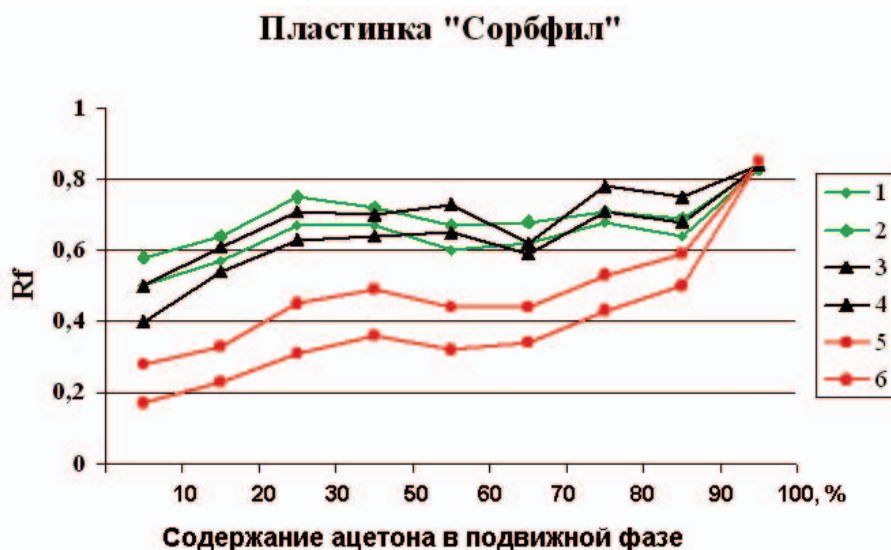
**Рис. 2 – Подвижность триазолов в серии растворов хлороформ-ацетон:**

- а – пластинка "Силуфол"; б– пластинка "Сорбфил";  
 1 – пенконазол; 2 – тридаменол; 3 – тебуконазол; 4 – миклобутанил;  
 5 – дихлобутразол; 6 – диниконазол.

Полученные данные показывают (рис. 2а), что, несмотря на широкий интервал использованных систем подвижной фазы, 6 компонентов разделяются на 3 группы по следующим парам: пенконазол + триадименол; тебуконазол + миклобутанил; дихлбутразол + диниконазол. Подобный факт можно объяснить, исходя из строения замещенных триазолов. Известно, что хроматографическое поведение органических соединений в слое сорбента в значительной степени определяется строением молекулы и наличием атомов и групп в ее структуре [10]. Все изучаемые нами триазолы близки по строению и определяющим фрагментом в процессе разделения является триазольное кольцо; отдельные атомы и группы, входящие в структуру, незначительно влияют на распределение электронной плотности на периферии соответствующих цепей молекулы и, как следствие, характер процесса хроматографирования практически одинаков (величины  $R_f$  близки между собой).

При хроматографировании аналогичной смеси триазолов в идентичных условиях на пластинках "Сорбфил" подвижность всех изученных триазолов возрастает и величина  $R_f$  увеличивается (рис. 2б). В подвижной фазе хлороформ-ацетон (3+2) на пластинке "Сорбфил" разделяются 5 веществ (пенконазол, триадименол, диниконазол, дихлбутразол, миклобутанил) и происходит неполное разделение тебуконазола и миклобутанила.

Из полученных нами замещенных триазолов 3 вещества (дифеноконазол, пропиконазол, ципроконазол) являются смесью изомеров. При хроматографировании этих соединений на пластинках "Сорбфил" в подвижных фазах с различным соотношением хлороформа и ацетона было установлено, что в системе хлороформ – ацетон (3+1) происходит полное разделение (рис. 3) изомеров всей трехкомпонентной системы.



**Рис. 3 – Разделение изомеров триазолов в серии растворов хлороформ-ацетон (пластинка "Сорбфил")**

*1,2 – дифеноконазол; 3,4 – пропиконазол; 5,6 – ципроконазол.*

Эффективность пластинок "Сорбфил" для разделения смеси замещенных триазолов может быть объяснена, исходя из динамической теории тонкослойной хроматографии, в соответствии с которой, при уменьшении размера зерен сорбента уменьшается размывание пятна за счет кинетических факторов и, как следствие, повышается разделительная способность хроматографического процесса.

Следует отметить, что использование пластинок "Сорбфил" позволяет провести раздельное определение пропиконазола и ципроконазола в одной пробе при сов-

местном присутствии (оба компонента являются действующими веществами препарата Альто-Супер 330 ЕС).

Обобщая полученные результаты, можно отметить, что применение простых и недорогих хроматографических методов, позволяет провести разделение и идентификацию некоторых замещенных триазолов. Разработанные параметры хроматографирования могут быть использованы в скрининговых исследованиях микроколичеств триазолов.

### **Выводы**

Изучена возможность разделения смеси некоторых триазолов на набивной и капиллярной колонках.

В идентичных условиях проведена сравнительная оценка эффективности разделения триазолов на пластинках "Силуфол" и "Сорбфил".

### **Список литературы**

1. *Papadopoulou-Mourkidou E., A. Kotopoulou, G. Papadopoulos, C. Hatziphanis.* Dissipation of cyproconazole and Quinalphos on/in grapes // Pestic. Sci, 1995, 45. p. 11-116.
2. *Гринько А.П., Кузнецова Е.М., Рева Н.И., Юрченко Т.В.* Аналитический контроль фунгицидных препаратов класса триазолов в питьевой и природной воде при применении интенсивных технологий в сельском хозяйстве Украины. // Тезисы докладов V Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды "Экоаналитика – 2003". СПб, 2003. – С. 188-189.
3. *Гиренко Д.Б., Коришун О.М., Омельчук С.Т., Гиренко Т.В.* Хроматографические методы определения замещенных фенилмочевин и триазолов. // Тезисы докладов V Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды "Экоаналитика – 2003". СПб, 2003. – С. 55.
4. *Benazeraf L., Soli C., Bruneau V., Cabanes E., Bussy Z., Thouvenin I., Pontal P.G., Duchene P.* Validation of an analytical method for the residue determination of myclobutanil and 2,4-D in specimens for a worker exposure study. //Book abstracts 5th European Pesticide Residue Workshop Pesticides in Food and Drink. Stockholm, 2004. – P. 77.
5. *Гринько А.П., Кузнецова Е.М., Рева Н.И.* Применение экстракции в анализе производных триазола. //Тезисы докладов III Международной конференции "Экстракция органических соединений". Воронеж, 2005. – С. 403.
6. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. // М., Агропромиздат., т. 1. – 1992 – 567 с.
7. Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде., К., 1995. – Сб. 22 – С. 59-64.
8. *Sakaliene O.* Validation of thin – layer chromatographic screening methods for pesticide residue analysis. //Book of abstracts 10th JUPAC International Congress on the Chemistry of Crop Protection. Basel, 2002. -P.207.
9. *Шандренко С.Г., Головин А.С., Дмитренко М.П., Юрченко А.І, Бабичева О.Ф.* Комп'ютерна реєстрація та аналіз результатів тонкошарової хроматографії. //Журнал Хроматографічного товариства. – 2002. – №4. – С.22-30.
10. *Клисенко М.А., Александрова Л.Г., Демченко В.Ф., Макаручук Т.Л.* Аналітична хімія залишкових кількостей пестицидів. – К., 1999. – 238 С.

*Научный лабораторный гигиенический центр  
Национального медицинского университета, г. Киев, пр. Победы, 34  
Надійшло до редакції 10.02.2006*