



УДК 543.544.5

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ТРИАЗИНОВ МЕТОДОМ ОФ ВЭЖХ

М. А. Арабская, М. А. Каземирова, Т. Д. Смирнова

Арабская Марина Александровна, младший научный сотрудник, «33 Центральный научный исследовательский испытательный институт» Министерства обороны Российской Федерации, Вольск, Саратовская область, agaaga051@mail.ru

Каземирова Марина Александровна, научный сотрудник, «33 Центральный научный исследовательский испытательный институт» Министерства обороны Российской Федерации, Вольск, Саратовская область, mari-pochka81@mail.ru

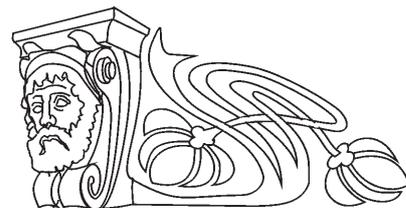
Смирнова Татьяна Дмитриевна, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, smirnovatd@mail.ru

Изучены сорбционные свойства симазина, атразина, пропазина и прометрина на коммерческих хроматографических колонках LiChrospher 60 RP select B, Hypersil BDS – C18 и Zorbax SB – C18 методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) с фотодиодным матричным детектированием. Рассмотрено влияние состава подвижной фазы на хроматографические характеристики разделения. Установлено оптимальное соотношение компонентов ацетонитрил – вода 60:40, об./об., которое обеспечивает оптимальное для анализа время удерживания триазинов и коэффициент асимметрии хроматографического пика. Показана возможность хроматографического разделения и определения триазинов в искусственной смеси.

Ключевые слова: триазины, высокоэффективная жидкостная хроматография, поверхностно-активные вещества, силикагель, хроматографические колонки.

DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-163-169

Триазиновые гербициды являются широко используемыми сельскохозяйственными пестицидами для защиты зерновых, овощных культур и виноградников от сорных растений [1, 2]. Среди них лидирующее место по объемам производства и применения занимают симазин, пропазин, прометрин и аметрин. Симметричные 1,3,5-триазины хорошо растворимы в воде и способны к аккумуляции в почвенных водах, верхних слоях почв почвенными коллоидами и растениями. Особенностью триазинов является высокая химическая устойчивость и различная степень токсичности [3]. Максимально допустимая концентрация симазина, прометрина, аметрина в питьевой воде составляет менее 100 нг/л, пропазина в поверхностных водах – 1 мг/л. Использование атразина вообще запрещено в Российской Федерации с 2007 г. [4], но в других



странах он применяется до настоящего времени.

Пестициды триазиновой группы подвергаются в почвах небиотическому и биотическому разложению. Скорость и эффективность небиотического разложения в результате гидролиза существенно зависят от кислотности, температуры, влажности и минерального состава почв.

Особую роль в разложении триазинов выполняет фотолит, актуальный для препаратов, вносимых на поверхность почв [5].

Процессы биодеградации возможны и эффективны только в присутствии специфических микроорганизмов [6, 7].

Способность триазиновых гербицидов включаться в трофическую цепь звеньев экологической системы, оказывая негативное влияние на организм человека [8], вызывает необходимость в организации химического мониторинга объектов окружающей среды, разработке новых простых и доступных методик их определения в природных водах, почвах, воздухе и пищевых продуктах.

Остаточные содержания триазинов чаще определяют методами газожидкостной [9, 10], тонкослойной [11], высокоэффективной [12, 13] и газовой хроматографии [14–16], капиллярного электрофореза [17]. В качестве неподвижных фаз применяют хроматографические колонки торговых марок Zorbax, LiChrospher, Luna, Hypersil, Nucleosil и др., заполненные силикагелем, сорбционные свойства которых зависят от размера частиц сорбента, числа привитых алкильных групп и других характеристик.

Целью настоящей работы является изучение хроматографических свойств некоторых триазинов с использованием коммерческих хроматографических колонок методом ОФ ВЭЖХ с фотодиодным матричным детектором.

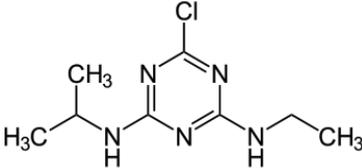
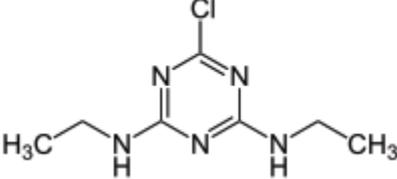
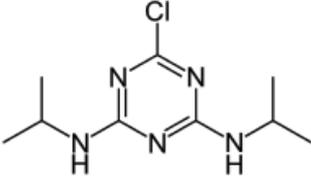
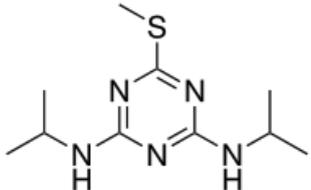
Материалы и методы

Реагенты. В работе использовали стандартные образцы индивидуальных пестицидов класса триазинов (с содержанием основного вещества не менее 97,0%) фирмы «PolyScience Corporation», США, структурные формулы которых представлены в табл. 1. Стандартные растворы концентрации 1,0 мг/мл готовили растворением точных навесок в метиловом спирте, Multi solvent HPLC grade, 99,99%, Испания.



Таблица 1

Формулы исследуемых триазинов

Название	Формула
Атразин (6-хлоро-4-N-этил-2-N-пропан-2-ил-1,3,5-триазин-2,4-диамин)	
Симазин (6-хлор-N,N'-диэтил-1,3,5-триазин-2,4-диамин)	
Пропазин (2-хлор-4,6-бис(изопропиламино)-1,3,5-триазин)	
Прометрин (6-метилсульфанил-2-N,4-N-ди(пропан-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4-диамин)	

Для приготовления подвижных фаз использовали ацетонитрил «для ВЭЖХ», сорт 1, «Криохром», С.-Петербург; бидистиллированную воду; водный раствор аммиака и уксусной кислоты концентрации 2.0 М «ч», ГОСТ 3117-78, «Химмед», Россия; додецилсульфат натрия, содержание основного вещества не менее 99%, ОАО «Реактив», Россия.

Аппаратура. Исследования проводили на жидкостном хроматографе «Agilent 1100» фирмы Agilent Technologies, США с фотодиодным матричным детектором с длиной волны в диапазоне от 191 до 400 нм. Хроматографическое разделение проводили в изократическом режиме на хроматографических колонках LiChrospher 60 RP select B, «Agilent Technologies», Германия; Hypersil BDS – C18, «Agilent», США и Zorbax SB – C18, «Agilent», США, заполненных неполярным гидрофобным силикагелем с привитыми октадецильными группами. Размер сферических частиц сорбента составил 5 мкм. Скорость подачи элюента – 1,0 мл/мин, объем вводимой пробы – 10 мкл, температура термостата 26±2°C.

Обработку полученных данных осуществляли с помощью программы «Chem Station».

Результаты и их обсуждение

Выбор длины волны детектора. Исследуемые гербициды относятся к одной группе соединений, имеют близкое строение и характеризуются спектрами поглощения с максимумом при 210 и 300 нм. Детектирование исследуемых триазинов методом оптической молекулярной абсорбционной спектроскопии при длине волны 210 нм обеспечивает высокую чувствительность определения.

Выбор хроматографической колонки. В жидкостной хроматографии к сорбенту предъявляется ряд жестких требований, которые включают механическую прочность, развитую поверхность, однородный фракционный состав, химическую инертность по отношению к компонентам элюента и анализируемой пробы. В настоящей работе в качестве неподвижной фазы (НФ) используется силикагель хроматографических колонок LiChrospher 60 RP select B, Hypersil



BDS – C18 и Zorbax SB – C18 с различными размерами частиц, объемом пор и эффективной поверхностью (табл. 2). Кроме этого, силикагель Hypersil BDS – C18 является эндкепированным сорбентом, в котором остаточные силанольные группы дополнительно модифицированы короткоцепочными углеводородами, увеличивающими

плотность функциональных групп. Известно, что недостатками обращенно-фазовых сорбентов на основе силикагеля являются ограничения в рабочем диапазоне рН и нежелательная сорбционная активность остаточных силанольных групп. В результате эндкеппинга удается нивелировать вышеуказанные недостатки.

Таблица 2

Некоторые технические характеристики хроматографических колонок

Характеристика	LiChrospher 60 RP select B	Hypersil BDS – C18	Zorbax SB – C18
Размер пор, Å	60	130	80
Объем пор, мл/г	0,9	0,65	0,65
Доля углерода, % C	11,5	11,0	10,0
Эффективная поверхность, м ² /г	360	170	180
Эндкепирование	Нет	Да	Нет

Выбор колонки для хроматографирования триазинов нами сделан на основании анализа сорбционных свойств атразина, как модельного соединения ряда исследуемых веществ. Некоторые характеристики сорбционных свойств атразина на силикагеле трех различных хроматографических колонок представлены в табл. 3. Как видно из таблицы, максимальные значения

площади хроматографического пика и оптимальные времена удерживания наблюдаются в случае использования Hypersil BDS – C18, что связано, по-видимому, с особенностью дополнительной модификации силанольных групп сорбента. Дальнейшие исследования хроматографических свойств триазинов проводились на колонке Hypersil BDS – C18.

Таблица 3

Хроматографические характеристики атразина при различном составе ПФ

$C_{атр} = 1.0$ мг/мл; рН 7,0, $\lambda_{погл} = 210$ нм

Состав подвижной фазы, об./об.		Хроматографические колонки					
		Hypersil BDS C18		Zorbax SB-C18		Lichrospher 60 RP select B	
Ацетонитрил, %	Вода, %	Время удерживания, мин.	Площадь пика, усл.ед.	Время удерживания, мин.	Площадь пика, усл.ед.	Время удерживания, мин.	Площадь пика, усл.ед.
10	90	–	–	–	–	–	–
20	80	–	–	–	–	–	–
30	70	5,8	670	6,7	600	6,6	40500
40	60	4,9	41500	6,5	36080	3,5	29600
50	50	2,9	33800	3,9	27800	2,3	23550
60	40	2,1	29200	2,8	22400	1,7	19600
70	30	1,7	28000	2,3	19,300	1,5	16600
80	20	1,5	28300	2,0	17700	1,4	15800
90	10	1,5	–	1,8	16800	1,4	15000

Примечание. Прочерк означает, что в данных условиях вещество не хроматографируется.

Состав подвижной фазы. Как правило, в качестве подвижной фазы (ПФ) ОФ варианта ВЭЖХ используют воду, смеси буферных растворов и органических растворителей (ацетонитрил или метанол) [18]. Учитывая оптическую прозрач-

ность ацетонитрила в диапазоне детектирования триазинов ($\lambda_{погл} = 210$ нм), меньшую вязкость и не столь значимую токсичность по сравнению с метанолом [19], нами в качестве органического растворителя ПФ выбран ацетонитрил.



Установлено, что при содержании ацетонитрила в смеси ПФ от 10 до 30 об./об. хроматографический пик атразина практически не проявляется (см. табл. 3). Увеличение содержания ацетонитрила в смеси с водой до соотношения 40:60 об./об. вызывает возрастание и максимальное значение площади хроматографического пика при коэффициенте асимметрии – 0.60. В таких условиях время удерживания атразина достаточно велико, что неудобно для анализа. При увеличении доли ацетонитрила в смеси ПФ 60:40 об./об. коэффициент асимметрии возрастает до 0.99, а время удерживания атразина оптимально и составляет 2.1 мин. Далее в исследовании хроматографического разделения триазинов использовалась ПФ состава ацетонитрил – вода 60:40 об./об.

Влияние pH подвижной фазы. Изучено влияние кислотности среды подвижной фазы на хроматографические характеристики атразина. В качестве буферного раствора использовался ацетатно-аммиачный буфер. Установлено, что при значениях $\text{pH} > 7$ (слабощелочная и щелочная среды) площадь хроматографического пика значительно уменьшается в результате гидролиза определяемого вещества [6]. В кислой среде при $\text{pH} < 5$ сорбция триазинов не происходит, по-видимому, в связи с протонированием аналита. Установлено, что максимальная площадь хроматографического пика наблюдается в интервале кислотности 6.0 – 7.0 (рис. 1). Дальнейшие исследования проводились в среде, близкой к нейтральной ($\text{pH} 6.0 - 7.0$).

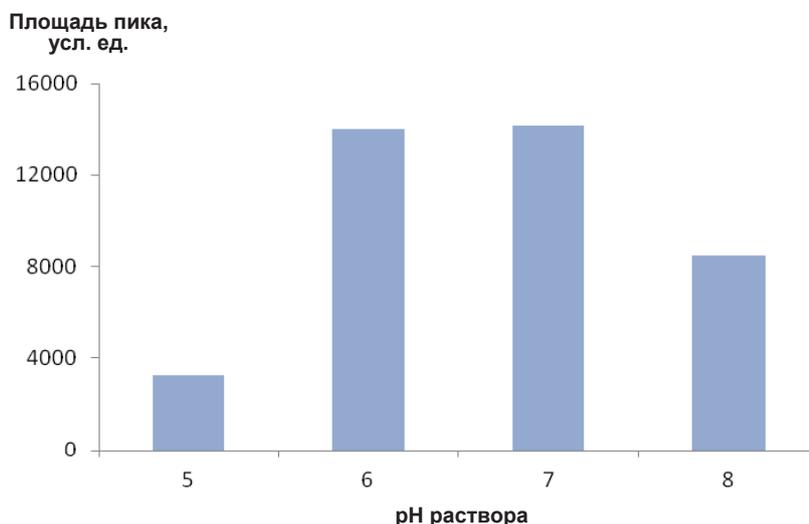


Рис. 1. Площадь хроматографического пика атразина в зависимости от кислотности среды подвижной фазы. Сорбент Hypersil BDS C18; ПФ: ацетонитрил-ацетатно-аммиачный буферный раствор ($\text{pH} 5.0-8.0$); $C_{\text{атр}} = 1.0$ мг/мл; $\lambda_{\text{полг}} = 210$ нм

Влияние поверхностно-активных веществ. Известно, что добавки ионов и мицелл поверхностно-активных веществ (ПАВ) к компонентам подвижной фазы могут изменять химическую форму сорбатов и состояние поверхности сорбента, оказывая влияние на хроматографические параметры анализируемого вещества. В присутствии добавок анионного ПАВ додецилсульфата натрия (ДДС, $4.0 \cdot 10^{-3}$ М) в ПФ площадь хроматографического пика прометрина и пропазина возрастает на 21% и 8% соответственно. Увеличение интенсивности аналитического сигнала и сорбционных свойств гидрофобных триазинов связано с модификацией анионами ПАВ сорбента хроматографической колонки. Менее гидрофобные симазин и атразин характеризуются уменьшением пло-

щади хроматографического пика на 27% и 15% соответственно. Время удерживания исследуемых пестицидов существенно не меняется, при этом симметричность пиков нарушается, что уменьшает точность определения (табл. 4). В связи с вышесказанным в дальнейших исследованиях добавки анионных ПАВ не использовались.

Таким образом, установлены оптимальные условия хроматографирования атразина: колонка Hypersil BDS C18, ПФ состава ацетонитрил – вода 60:40, об./об., $\text{pH} 7.0$. Время удерживания атразина составляет 2.1 мин. Диапазон концентраций, где соблюдается линейная зависимость от площади хроматографического пика составляет $0.1 \cdot 10^{-3} - 0.1$ мг/мл, предел обнаружения $8.0 \cdot 10^{-5}$ мг/мл (3σ).



Таблица 4

Хроматографические характеристики триазинов в присутствии и в отсутствие ДДС в ПФ (Сорбент Hypersil BDS C18; $C_{атр} = 1.0$ мг/мл, pH 7.0; $\lambda_{погл} = 210$ нм)

Гербицид	В отсутствие ДДС			В присутствии ДДС		
	Площадь хроматографического пика, усл. ед.	Время удерживания, мин	Фактор асимметрии, ед.	Площадь хроматографического пика, усл. ед.	Время удерживания, мин.	Фактор асимметрии, ед.
Симазин	26800	1,8	1,02	19600	1,8	0,73
Атразин	33000	2,1	0,94	27800	2,3	0,66
Пропазин	30700	2,5	0,92	33360	2,6	0,64
Прометрин	35800	3,1	0,94	45640	3,7	0,31

Хроматографирование триазинов. В аналогичных условиях получены индивидуальные хроматограммы для симазина, пропазина и прометрина (табл. 5). Исследована возможность их разделения в смеси. Для этого

10 мкл смеси, содержащей 1.0 мг/мл каждого из компонентов, – симазина, атразина, пропазина и прометрина – вводят в хроматограф. Полученная хроматограмма представлена на рис. 2.

Таблица 5

Характеристики хроматографического разделения триазинов (Hypersil BDS C18; ПФ ацетонитрил – вода 60:40 об./об.; концентрация каждого триазина – 0.25 мг/мл; pH 7.0; $\lambda_{погл} = 210$ нм)

Гербицид	Эффективность хроматографической колонки т.т., N	Фактор асимметрии, As	Селективность, $\alpha_{A/B}$	Коэффициент разделения пиков, Rs
Атразин	3800	0,99	1,2	2,9
Симазин	4300	0,98	1,2	3,4
Пропазин	4700	0,97	1,3	4,2
Прометрин	5200	0,71	1,2	1,8

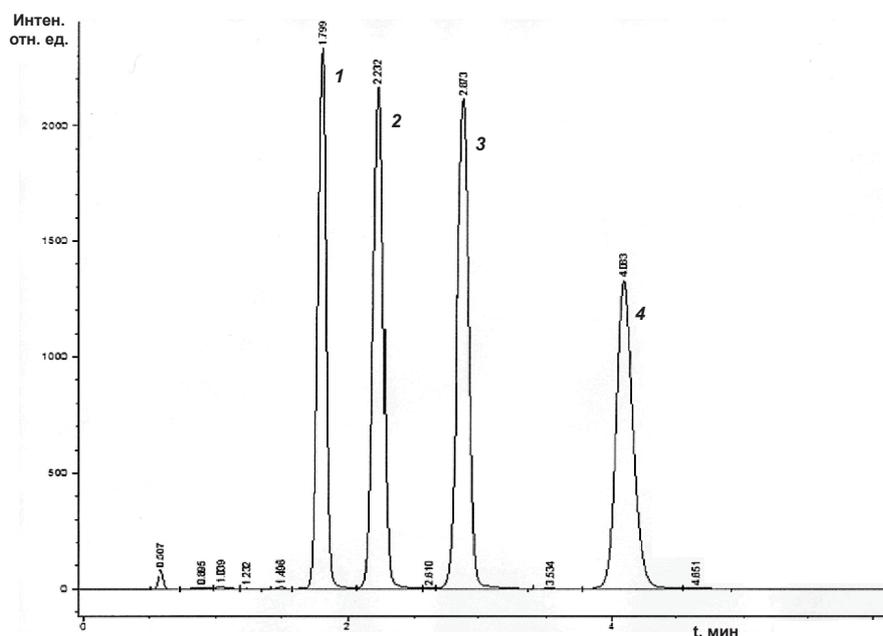


Рис. 2. Хроматограмма смеси симазина (1), атразина (2), пропазина (3), прометрина (4). Hypersil BDS C18; ацетонитрил – вода 60:40 об./об.; pH 7.0; концентрация каждого компонента в смеси – 0.25 мг/мл



Нами показано (рис. 3), что с увеличением индекса липофильности индивидуального триазина возрастает время его удерживания на сорбенте, что полностью согласуется с общей закономерностью сорбционных процессов.

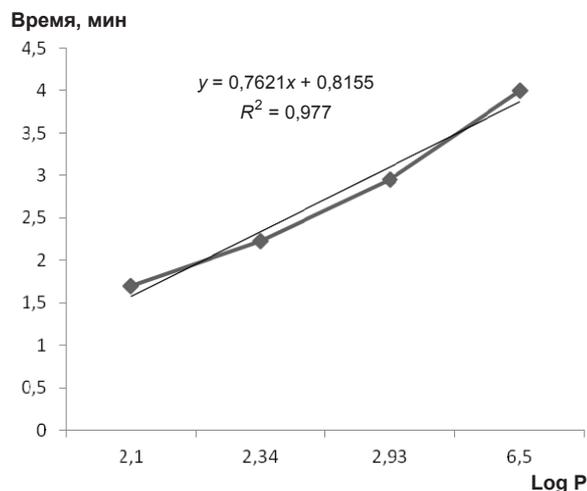


Рис. 3. Зависимость времени удерживания хроматографируемых триазинов от индекса липофильности. Колонка Nupersil BDS C18; ацетонитрил – вода 60:40 об./об.; pH 7.0; концентрация триазинов – 0.25 мг/мл

Выводы

На примере атразина выявлены оптимальные условия хроматографирования соединений ряда триазинов с помощью колонки Nupersil BDS – C18. Установлен оптимальный состав подвижной фазы ацетонитрил – вода 60:40 об./об., который обеспечивает приемлемое для анализа время удерживания атразина (2.1 мин) и других триазинов. Показана принципиальная возможность разделения и хроматографического определения триазинов в искусственной смеси.

Список литературы

1. Куликова Н. Ф., Лебедева Г. Ф. Гербициды и экологические аспекты их применения : учеб. пособие. М. : Либроком, 2010. 152 с.
2. Раймундо-Раймундо Э., Эрнандес-Варгас Х., Никольский Ю. Н., Губер А. К., Гави-Рейес Ф., Прадо-Пано Б. Л., Фигероа-Сандовал Б., Мендоса-Эрнандес Х. Р. Определение параметров передвижения атразина в вертисоли // Журн. почвоведения. 2010. № 11. С. 606–613.
3. Медведь Л. И. Справочник по пестицидам (гигиена применения и токсикология). Киев : Урожай, 1974. 448 с.
4. Мельников Н. Н. Пестициды. Химия, технология и применение. М. : Химия, 1987. 712 с.
5. Мазитова А. К., Сухарёва И. А., Азамов Р. Р., Буйло-

- ва Е. А., Недопекин Д. В. Химические превращения 3-меркаптопроизводных несимметричных триазинов // Башкир. хим. журн. 2017. Т. 24, № 2. С. 75–80.
6. Мартыненко В. И., Промоненко В. К., Куколенко С. С., Володкович С. Д., Каспаров В. А. Пестициды : справочник. М. : Агропромиздат, 1992. 368 с.
7. Иванова Е. В., Ксенофонтова О. Ю. Выявление некоторых факторов патогенности у микроорганизмов деструкторов сим-триазинового гербицида прометрина // Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков. 2013. № 2. С. 7–9.
8. Безуглов В. Г. Применение гербицидов в интенсивном земледелии. 2-е изд., перераб. и доп. М. : Росагропромиздат, 1988. 205 с.
9. Массовая доля триазиновых гербицидов симазина и прометрина в пробах почвы. Методика измерений методом газожидкостной хроматографии: РД 52.18.188-2011 : [утв. заместителем руководителя Росгидромета 26.01.2011: ввод в действие с 01.01.2012]. Обнинск : ФГБУ «ВНИИГМИ-МЦД», 2011. 37 с.
10. Муратов Д. Н., Сотников Б. А., Щегольков Н. Ф. Одновременное определение остаточных количеств атразина, симазина и прометрина в почве методом газожидкостной хроматографии // Экология Центрально-Черноземной области Российской Федерации. 2010. № 2. С. 83–87.
11. Клисенко М. А., Калинина А. А., Новикова К. Ф., Хохолькова Г. А. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде : справочник : в 2 т. Т. 2 / под ред. А. А. Белоусова, Е. М. Козина. М. : Агропромиздат, 1992. 416 с.
12. Амелин В. Г., Лаврухин Д. К., Третьяков А. В., Ефремова А. А. Определение полярных пестицидов в воде, овощах и фруктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2012. Т. 53, № 6. С. 392–400.
13. Bealea David J., Kaserzona Sarit L., Portera Nicola A.C., Roddickb Felicity A., Carpenter Peter D. Detection of s-triazine pesticides in natural waters 270 by modified large-volume direct injection HPLC // Talanta. 2010. Vol. 82. P. 668–674.
14. Дорожук В. А., Левчик В. М., Мандзюк Е. С. Мицеллярно-экстракционное концентрирование сим-триазиновых гербицидов для газохроматографического определения // Журн. аналит. химии. 2015. Т. 70, № 2. С. 127–133.
15. Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовой концентрации фосфорорганических и сим-триазиновых пестицидов в пробах питьевых, природных и сточных вод методом газовой хроматографии: ПНД Ф 14.1:2.4.205-04: [утв. Директором ФГУ «Федерального научно-методического центра анализа и мониторинга окружающей среды МПР России» Г. М. Цветковым 23.06.2004]. М. : Росгидромет, 2009. 18 с.
16. Массовая концентрация пропазина, атразина, симазина, прометрина в водах. Методика выполнения измерений газохроматографическим методом : РД



- 52.24.410-2011: [утв. Заместителем Руководителя Росгидромета 09.04.2011]. Ростов н/Д: Росгидромет, ГУ «ГХИ», 2011. 20 с.
17. Амелин В. Г., Большаков Д. С., Третьяков А. В. Разделение и определение полярных пестицидов в грунтовых, поверхностных и питьевых водах методом капиллярного электрофореза // Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67, № 11. С. 904–924.
18. Садек П. Растворители для ВЭЖХ / пер. с англ. М.: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2006. 704 с.
19. Долгоносов А. М. Неспецифическая селективность в проблеме моделирования высокоэффективной хроматографии. М.: Либроком, 2013. 256 с.

Chromatographic Separation of Some Triazines by HPLC

M. A. Arabskaya, M. A. Kazemirova, T. D. Smirnova

Marina A. Arabskaya, ORCID 0000-0001-9370-2981, «33 Central scientific research testing institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 1, Red Banner Str., Saratov Region, Volsk, 412918, Russia, araara051@mail.ru

Marina A. Kazemirova, ORCID 0000-0002-0549-6813, «33 Central scientific research testing institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 1, Red Banner Str., Saratov Region, Volsk, 412918, Russia, mari-nochka81@mail.ru

Tatyana D. Smirnova, ORCID 0000-0002-3391-1092, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, smirnovatd@mail.ru

Sorption properties of simazine, atrazine, propazine and prometrin on commercial chromatographic columns of LiChrospher 60 RP select B, Hypersil BDS-C18, and Zorbax SB-C18 were studied by reversed-phase high-performance liquid chromatography with photodiode matrix detection. The influence of the composition of the mobile phase on the chromatographic characteristics of the separation is considered. It was found that with the content of acetonitrile in a mixture of PF from 10 to 30 vol/vol. the chromatographic peak of atrazine is practically not manifested. With an increase in the proportion of acetonitrile in the mixture of PF 60:40 v/v. the coefficient of asymmetry increases to 0.99, and the retention time of atrazine is optimal and is 2.1 minutes. The effect of the acidity of the mobile phase environment on the chromatographic characteristics of atrazine was studied. It has been established that at $\text{pH} > 7$ the area of the chromatographic peak is significantly reduced as a result of hydrolysis of the substance being determined. In an acidic medium at $\text{pH} < 5$, triazine sorption does not occur, apparently due to the protonation of the analyte. It is established that the maximum area of the chromatographic peak is observed in the acidity range 6.0–7.0. The possibility of chromatographic separation and determination of triazines in an artificial mixture is shown. **Key words:** triazines, high-performance liquid chromatography, surfactants, silica gel, chromatographic columns.

Образец для цитирования:

Арабская М. А., Каземирова М. А., Смирнова Т. Д. Хроматографическое разделение некоторых триазинов методом ОФ ВЭЖХ // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 2. С. 163–169. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-163-169.

Cite this article as:

Arabskaya M. A., Kazemirova M. A., Smirnova T. D. Chromatographic Separation of Some Triazines by HPLC. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 2, pp. 163–169 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-163-169.