

## Organofoszfát peszticidmaradvány meghatározása fűszerpaprikában\*

KÖMÍVES TAMÁS, KATONA ÁBRISNÉ\*\*,  
MÁRTON ATTILA FERENC és DUTKA FERENC

MTA Központi Kémiai Kutató Intézet, Budapest

Érkezett: 1977. augusztus 1.

Az élelmiszerekben található foszforsavészter típusú peszticidmaradványok meghatározásának extrakciós és detektálási lépésére több megbízható, kvantitatív módszer áll rendelkezésre. Ezek színvonalához képest azonban távolról sem tekinthető megoldottnak az extraktum tisztításának problémája. A nagyszámú peszticid és élelmiszer mindegyikére alkalmazható analitikai eljárás nem ismeretes, és megjelenése a közeljövőben sem várható.

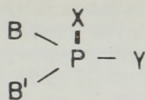
A peszticidmaradvány-analízis területén különleges feladatot jelent a természetes színezékanyagokban gazdag élelmiszerminták vizsgálata. A problémák hangsúlyozottan vetődnek fel, ha a színezékanyagok és a meghatározni kívánt peszticidek néhány – az analízis extrakciós, folyadék-folyadék megoszlási és oszlopkromatográfiás tisztítási lépésének hatékonyságát döntő mértékben befolyásoló – fizikai tulajdonsága (oldhatóság, szorpciós jellemzői, stb.) hasonló.

Jelen vizsgálatunk tárgyát a természetes színezékanyagokban gazdag fűszerpaprika organofoszfát peszticid-tartalmának vékonyréteg-kromatográfiás detektálása képezi. A meghatározandó peszticidek (I) X atomjának, Y, B és B' csoportjainak, valamint a fűszerpaprika karotinoid színezékanyagai (II) R és R' csoportjaitól függően a két vegyülettípus szorpciós és oldhatósági jellemzői igen széles határok között változtak, így a meghatározás során a színezékanyagok és a peszticidek interferenciája várható. (I. képlet).

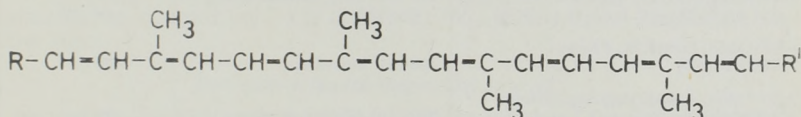
A foszforsavészterek extrakciójára a nemzetközi peszticidanalitikai gyakorlatban javasolt oldószerek, a fűszerpaprikából – a szermaradvánnyal együtt – a minta karotinoid színezékanyag-tartalmának jelentős hányadát is kioldják (I. táblázat). A színezék:peszticid arány – legalábbis elvileg – nagyobb szelektivitású extraháló oldószert alkalmazásával csökkenthető, ennek gyakorlati megvalósítását azonban a számításba vehető oldószerek kis száma nehezíti. Következésképpen az extraktum tisztítási lépésének kell igen nagy hatékonysággal rendelkeznie.

\* A MÉM Állategészségügyi és Élelmiszer-higiéniai Főosztálya és a MTA Központi Kémiai Kutató Intézete által 1977. március 16–17-én rendezett tudományos szimpóziumon elhangzott előadás alapján (Szerk.).

\*\* MÉM Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Központ, Budapest.



I



II

1. táblázat

Organofoszfát peszticidek extrakciójához  
ajánlott oldószerek és a kinyert mennyiség

Oldószer	Bepárlási maradék 10 g fűszerpaprikából
Nitro-metán .....	0,83 g
Acetonitril .....	0,85 g
Etil-acetát .....	0,92 g
Diklór-metán .....	1,19 g
Kloroform .....	1,32 g
Aceton .....	1,75 g

A tisztítás – a szakirodalomban ismertetett módszerek (I) túlnyomó többségénél – folyadék-folyadék megoszlás és/vagy oszlopkromatográfia alkalmazásával történik. Mint az extrakció kis szelektivitása is mutatja, az oldhatósági viszonyok nem teszik lehetővé a folyadék-folyadék megoszláson alapuló tisztítást. A fűszerpaprika szerves foszforvegyület peszticidtartalmának meghatározásához ezért egy nagy kapacitású és nagy szelektivitású oszlopkromatográfiai tisztítási módszer szükséges.

A fentiek ismeretében nem meglepő, hogy a nemzetközileg elfogadott maradványanalitikai módszerek – éppen folyadék-folyadék megoszlási és oszlopkromatográfiai tisztítási lépésük kis kapacitása és elégtelen hatékonysága miatt – módosítás nélkül nem adaptálhatók (2. táblázat).

A vizes acetonitriles extraktum és diklórmetán vagy petroléter közötti folyadék-folyadék megoszlás módszere – mely egyéb növényi eredetű minták vizsgálatára jól használható – sem vezet eredményre, ugyanis a színezékanyag 97%-a a peszticidekkel együtt a diklórmetános (petroléteres) fázisba kerül át.

A kromatográfiai szorbens összetételének tervezési szempontjai között irányadó jelentőségű volt az aktív szén kiemelkedően jó színezékanyag-megkötő tulajdonsága. Aktív szén szorbenssel és dimetóat peszticiddel (I: B = B' = metoxi, X = kén, Y = N-metil-karbamoil-metil) végzett vizsgálataink során megállapítottuk,

## Organofoszfát peszticidek extraktumának tisztítására ajánlott módszerek ellenőrzése fűszerpaprikában

Oszloptöltet összetétele	Eluens	Karotinoid színezék megjelenése
Florisil (AOAC, E.Á.) (2, 3) .....	200 cm <sup>3</sup> 6% é.-p.é. 200 cm <sup>3</sup> 15% é.-p.é. 200 cm <sup>3</sup> 50% é.-p.é.	80 cm <sup>3</sup> — —
Aktív szén, kovaföld, magnézium-oxid (AOAC, E.Á.) (2, 4) .....	120 cm <sup>3</sup> 50% acetonitril-benzol	40 cm <sup>3</sup>
Aktív szén, kovaföld, Florisil (E.G.K.) (5) .....	200 cm <sup>3</sup> kloroform	50 cm <sup>3</sup>
Aktív szén, mikrokristályos cellulóz (Japán) (6) .....	200 cm <sup>3</sup> n-hexán-aceton	80 cm <sup>3</sup>
Sephadex LH-20 (7) .....	450 cm <sup>3</sup> etanol	30 cm <sup>3</sup>

hogy eluensként erősen poláris oldószert alkalmazva a szerves foszforvegyület a karotinoid színezékanyagoktól igen jó szelektivitással választható el. Metoxi-szénatonon <sup>14</sup>C-izotóppal jelzett dimetoát alkalmazásával megállapítottuk, hogy a peszticid acetonitriles elució alkalmazásával 81%-ban, míg nitrometános elucióval 95%-ban nyerhető vissza. A szermaradék maximális visszanyeréséhez szükséges eluát mennyiséget (100 cm<sup>3</sup>) szintelennek találtuk (karotinoid színezékanyagok spektrofotometriás úton sem mutathatók ki). Ennek ellenére, a peszticid vékonyrétegekromatográfiás detektálását az alkalmazott 4-(4-nitro-benzil)-piridin, N-klór-2,6-dibróm-benzokinon-imin és N-2,6-triklór-benzokinon-imin reagensekkel színezéket képező, szintelen koextraktum zavarta. Ez a koextraktum a peszticid aktív szénen történő jó elválasztásához szükséges, erősen poláris oldószerral Kieselgel 60 szobensen különíthető el.

A fűszerpaprika extraktumára, a fentieket figyelembe vevő, általunk kidolgozott oszlopkromatográfiás tisztítási eljárás előnye, hogy igen egyszerű (részletes leírást lásd: Kísérleti rész) továbbá, hogy alkalmazásával a dimetoát vékonyrétegekromatográfiás detektálása is zavartalanul oldható meg. A javasolt módszer egyéb organofoszfát peszticidekkel történő ellenőrzése folyamatban van.

## Kísérleti rész

## Anyagok

**Oldószerek** (valamennyi felhasznált oldószert REANAL gyártmány): Az acetonitril vízmentes kálium-karbonáton refluxoltuk, majd foszfor-pentoxidról desztilláltuk. Az etil-acetátot vízmentes kálium-karbonáton szárítottuk, desztilláltuk, majd foszfor-pentoxidról újradesztilláltuk. A kloroformot vízzel mostuk, nátrium-karbonáton szárítottuk és desztilláltuk. A diklór-metánt koncentrált kénsavval, vízzel, híg nátrium-hidroxid oldattal mostuk, majd kalcium-kloridon szárítottuk és desztilláltuk. Az étert kalcium-kloridon szárítottuk és desztilláltuk. Az etanol desztillálás előtt kalcium-oxidon refluxoltuk. A petrolétert tisztítás nélkül használtuk fel.

**Kromatográfiás szorbensek:** Aprított darabos aktív szenet (REANAL) szitálásal választottunk el (30–70 mesh szemcsenagyság), ezt tömény sósavval kezeltük,

vizzel semlegesre mostuk, 95 °C-on szárítottuk. A magnézium-oxidot (REANAL) alkohollal mostuk, 140 °C-on szárítottuk. A Florisil (REANAL, 600°-on hevített) 130 °C-on aktiváltuk. A kovaföldet (REANAL, savval mosott, izzított), a nátrium-szulfátot (REANAL) és a Kiesegel 60-at kezelés nélkül használtuk. A v.r.k. lapokat (20×20 cm) Kiesegel H réteggel (MERCK) borítottuk.

Vékonyréteg-kromatográfias szinképző vegyületek (FLUKA), A 2,6-dibróm-N-klór-benzokinon-imint, az N-2,6-triklór-benzokinon-imint, a 4-(4-nitro-benzil)piridint és a tetraetilén-pentamint tisztítás nélkül használtuk fel.

### *Spektrofotometriás vizsgálatok*

A méréseket 1 cm úthosszúságú, 3 cm<sup>3</sup> térfogatú, teflundugós küvetták (TSL) alkalmazásával, Specord UV – VIS (CARL ZEISS, JENA) típusú készüléken hajtottuk végre.

### *Folyadék-folyadék megoszlási kísérlet*

50 cm<sup>3</sup> vizet és 100 cm<sup>3</sup> acetonitrilt tartalmazó oldathoz 1,0 g oldószermentesre párolt paprika extraktumot (lásd *Extrakció*) adtunk. Az elegyet 150 cm<sup>3</sup> diklór-metánnal 30 másodperces erős rázással extraháltuk, majd 10 perces állás után a diklór-metános fázist elválasztottuk az enyhén sárga vizes-acetonitriles oldattól. A diklór-metános fázist 10 g nátrium-szulfáton szárítottuk, szűrtük és a szárítóanyagot 3×30 cm<sup>3</sup> diklór-metánnal átmostuk. Az egyesített oldatok bepárlási maradékának súlya 0,97 g.

### *Fűszerpaprika dimetoát-tartalmának meghatározása*

*Extrakció.* 10 g fűszerpaprikát 30 másodpercig homogenizálunk 150 cm<sup>3</sup> acetonitrillel. A kivonatot szűrőpapíron (MACHERY – NAGEL) szűrjük, majd rotációs bepárlón 2 cm<sup>3</sup>-re koncentrálnuk.

*Kromatográfias oszlop előkészítése.* 8 g aktív szenet és 24 g Kiesegel 60-at szárazon összekeverünk, majd 70 cm<sup>3</sup> acetonitrillel nedvesítünk. 70 cm<sup>3</sup> benzollal összekeverjük, a folyadékot dekantáljuk, és a szorbenst 40 cm<sup>3</sup> acetonitrillel összekeverjük. A szuszpenziót 22 mm belső átmérőjű kromatográfias oszlopra visszük fel.

*Elució.* Az előkészített oszlopon a 2 cm<sup>3</sup>-re koncentrált paprika extraktumot 200 cm<sup>3</sup> acetonitrillel eluáljuk. A tiszta (színezékanyagoktól mentes) eluátumot 0,5 cm<sup>3</sup> térfogatra koncentrálnuk.

*Detektálás.* A koncentrált eluátumot vékonyréteg-kromatográfias lapra viszük fel, benzol : aceton (5 : 3) elegyével fejlesztjük ki, majd levegőn szárítjuk. Ezt követően

A) 4-(4-nitro-benzil)piridin 4%-os acetonos oldatával permetezzük, 10 percig 130 °C-ra melegítjük, majd tetraetilén-pentamin 10%-os acetonos oldatával hívjuk elő a fehér háttéren megjelenő ibolyakék foltot (8). Érzékenység: 1 µg dimetoát.

B) 2,6-dibróm-N-klór-benzokinon-imin (N-2,6-triklór-benzokinon-imin) 0,1%-os oldatával permetezzük, és a lapokat 10 percig 110 °C hőmérsékleten tartjuk. A pszitidit vörösbarba foltja fehér háttéren jelentkezik (9). Érzékenység: 100 ng dimetoát.

### *Izotópos vizsgálatok*

A metoxi-szénatomon <sup>14</sup>C-izotóppal jelzett dimetoátot <sup>14</sup>C-bárium-karbonáttól kiindulva szintetizáltunk. Az első lépésben <sup>14</sup>C-metanolt állítottunk elő, majd ezt reagáltattuk egy lépésben klórecetsav-N-metil-amiddel és foszfor-pentaszulfid-dal.

0,5 – 10  $\mu\text{g}^{14}\text{C}$ -dimetoáttal szennyeztünk 10 g fűszerpaprikát. Az extraktumot aktív szén – Kieselgel 60 kevert oszlopon tisztítottuk, majd bepároltuk. A minta aktivitását PACKARD TRICARB készüléken határoztuk meg. A visszanyerés 75 – 80% közötti értékeknek adódott.

#### IRODALOM

- (1) Burchfield, H. P., Storrs, E. E.: J. Chromatog. Sci., 13, 202, 1975.
- (2) "Official Methods of Analysis", 12th Edit., Assoc. Offic. Anal. Chem., Chapter 29, Washington D.C., 1975.
- (3) Wessel, J. R.: J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 50, 430, 1967; 51, 472, 1968.
- (4) Storherr, R. W., Ott, P., Watts, R. R.: J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 54, 513, 1971.
- (5) Versino, B., Van der Venne, M. Th., Vißsers, H.: J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 54, 147, 1971.
- (6) Aoki, Y., Takeda, M., Uchiyama, M.: J. Assoc. Offic. Anal. Chem., 58, 1286, 1975.
- (7) Pflugmacher, J., Ebing, W.: J. Chromatog., 93, 457, 1974.
- (8) Ligeti G., Katona A.: Gyógyszerészet, 18, 11, 1974.
- (9) Beroza, M., Hill, K. R., Norris, K. H.: Anal. Chem., 40, 1608, 1968.

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНОГО КОЛИЧЕСТВА ПЕСТИЦИДОВ ОРГАНОФОСФАТА В ПРЯННОМ ПЕРЦЕ

T. Кемювеш, А. Катона, А. Ф. Мартон, Ф. Дутка

Прянный перец содержит большое количество органическому фосфорному соединению подобных растворимых каротиноидных красящих веществ сорбционного характера. В результате этого для определения остаточного количества пестицидов в перцах – из за недостаточной мощности и селективности разделения жидкости – жидкости и шагов колоннохроматографической очистки – международно принятый метод не является подходящим для аналитики пестицидов. Авторы разработали новый, более простой и эффективный способ очистки (содержащий смесь 8 г активного угля и 24 г Кизельгель 60, при элюации на хроматографической колонне с 22 мм внутренним диаметром с 200 см<sup>3</sup> ацетонитриллом). Метод проверяли на радиоактивном и метоксинглеродном атоме тонкослойно-хроматографическим анализом и на уровне 0,05 – 1,00 ppm остаточных пестицидов наблюдали 75 – 80%-ный возврат.

### BESTIMMUNG DER RÜCKSTÄNDE VON ORGANOPHOSPHATPESTIZIDEN IM GEWÜRZPAPRIKA

T. Kőmives, Á. Katona, A. F. Márton und F. Dutka

Ungarischer Gewürzpaprika enthält eine grosse Menge von Carotinoidfarbstoffen, die über ähnliche Löslichkeits- und Sorptionseigenschaften verfügen als die Organophosphorverbindungen. Infolgedessen sind die international angenommenen Methoden der Pestizidanalytik – mit Rücksicht auf die ungenügende Kapazität und Selektivität ihrer Prozedure der Flüssigkeits-Flüssigkeitsverteilung und der säulenchromatographischen Reinigung – zur Bestimmung der Pestizidrückstände im Paprika ungeeignet. Zur Reinigung wurde eine neue, einfache und wirkungsvolle Methode entwickelt (Eluieren mit 200 cm<sup>3</sup> Acetonitril auf einer ein Gemisch von 8 g Aktivkohle und 24 g Kieselgel 60 enthaltenden chromatographischen Säule von 22 mm innerem Durchmesser). Die Methode wurde durch die dünnschichtchromatographische bzw. radiometrische Analyse von inaktivem bzw. an seinem Methoxy-C-Atom mit <sup>14</sup>C markiertem Dimethoat kontrolliert, wobei eine Rückgewinnung von 75 – 80% bei einem Pestizidrückstandsgehalt von 0,05 – 1,00 ppm beobachtet wurde.