

Klórozott szénhidrogén peszticidmaradványok meghatározási eljárásainak izotópos ellenőrzése II.

MÁRTON ATTILA FERENC, KÖMÍVES TAMÁS,
DRASKOVICS IMELDA,* DUTKA FERENC

MTA Központi Kémiai Kutató Intézet, Budapest

Érkezett: 1978. augusztus 23.

Az organoklór növényvédőszer használata nem hozta meg a kívánt eredményt, mert az eltelt kb. 10 év alatt a szennyezettségi szint csökkent ugyan, de nem a feltételezett mértékben (1). Így a klórozott szénhidrogének ma is szennyeznek környezetünket és maradványaik bekerülnek a táplálékláncba is.

Bár az egyes országok intézményei, valamint a nemzetközi egészségügyi és mezőgazdasági szervezetek tudomásul veszik, hogy

- a szennyezettségi szint jelentősebb csökkenése a hatóanyagok nagy mennyiségének széles körű felhasználása és erős stabilitása miatt csak 10–20 év múlva várható;
- a humán toxicitásra vonatkozóan – jóllehet az akkumuláció bizonyított – csak nagyon közvetett bizonyítékok állnak rendelkezésre, az élelmiszerekre megengedhető maximális maradványszintet mégis egyre alacsonyabb értékek határozzák meg (2).

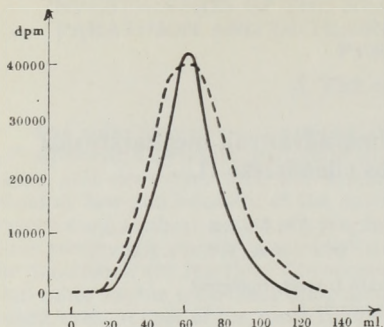
Mivel a klórozott szénhidrogén peszticidekhez szerkezetileg, valamint toxikus hatásukban hasonló vegyületeket (pl. poliklór-bifenilek) – nem növényvédelmi célokra – elterjedten használnak, az ilyen típusú szennyezőkre is szigorú határértékek érvényesek (3).

A magyarországi helyzet – annak ellenére, hogy az organoklór hatóanyagú peszticideket néhány kivétellel szintén betiltották – nem különbözik jelentős mértékben a nemzetközi átlagtól (4): néhány terméknél pl. karfiol (5), vadhús (6), import fűszerek (7) és az anyatejnél (8) viszonylag magas klórozott szénhidrogén-szermaradvány szintet tapasztaltak.

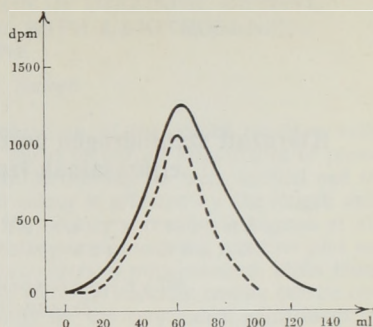
Az új élelmiszer törvény, valamint az említett tények egyaránt szükségessé tették megfelelő érzékenységű és megbízható eljárások alkalmazását a szennyezettségi szint megállapítására.

A klórozott szénhidrogén-szermaradványok detektálására, ill. meghatározására alkalmazott *hazai* módszert – amely egyike a KGST ajánlott eljárásainak – az elmúlt évben teszteltük (9).

Jelen tanulmányunkban a nemzetközi kereskedelemben is elfogadott AOAC 1975 (10) módszer ^{14}C -izotópos ellenőrzését, illetve az eljárás adaptációját ismertetjük.



1. ábra. DDT elúciója 5%-ban dezaktivált Florisil oszlopról



2. ábra. DDE elúciója 5%-ban dezaktivált Florisil oszlopról

KÍSÉRLETI RÉSZ

Szükséges eszközök

választótölcsér teflonsappal	125 cm ³ -es	1 db
	1000 cm ³ -es	2 db
kromatografáló oszlop teflonsappal		
belső Ø 22 mm, hossza 200–300 mm		2 db
csepegtető tölcser, csiszolatos	300 cm ³ -es	1 db
Kuderna–Danish bepárló készülék		1 db
Snyder kolonna – 3 gömbös		
mikro Snyder kolonna – 2 gömbös		
atmoszférikus kolonna		
üveggyöngy		
gyűjtőedény	500 cm ³	
centrifugacső	5 cm ³ -es, osztott	
termosztált vízfürdő		
vékonyrétegekromatográfiai készlet		1 db
Hamilton-fecskendő		
laphúzó berendezés		
UV előhívó lámpa (kvarclámpa)		
kifejlesztő kád		
permetező készülék – gázpalack		
mérőhenger	50 cm ³ -es	1 db
tölcsér, hosszúszerű		1 db
főzőpohár	50 cm ³ -es	1 db
főzőpohár	150 cm ³ -es	1 db
redős szűrő		

Vegyszerek

Petroléter P. G.	500 cm ³
üveggészülékben desztillálva, középső frakció összegyűjtve.	50 cm ³

Éter P. G.

üvegkészülékben desztillálva, középső frakció összegyűjtve, nitrogén alatt tárolva.

Acetonitril P. G.

150 cm³

4 l acetonitril 1 cm³ foszforsav és 30 g foszfor-pentoxid jelenlétében üvegkészülékben desztilláltunk, a 81–82 °C frakciót összegyűjtjük. Ügyeljünk, hogy a kolonna hőmérséklet *ne* haladja meg a 82–83 °C-ot!

Desztillált víz

1000 cm³

szokásos módon, kétszer desztillálva.

Nátrium-klorid telített vizes oldata

50 cm³

Florisil 60/100 mesh P. G.

25 g

650 °C-on aktiváljuk, csiszolt dugós üvegedényben tároljuk, felhasználás előtt 130 °C-on 5 órán át hevítjük, az eljárást 2 napos tárolás után megismételjük.

Eluens

60 cm³ étert 1000 cm³-re hígítunk petroléterrel.

Mintakészítés

Étkezési sertészsír

megömléstés után a mechanikai szennyeződésekét száraz redős szűrőn távolítjuk el.

Étolaaj

különösebb előkészítést *ne* igényel, az esetleges mechanikai szennyeződések redős szűrőn eltávolíthatók.

Teavaj

vízfürdőn 60–70 °C-ra melegítjük fel, amíg 3 fázisra válik szét; a felső (aransárga) részt dekantálva, redős szűrőn szűrjük.

Az így előkészített minták 3 g-ját 15 cm³ petroléterrel maradéktalanul egy 125 cm³-es választótölcsérbe mossuk, majd petroléterrel telített 30 cm³ acetonitrilt hozzáadva 1 percig erőteljesen rázzuk. Ezt a műveletet háromszor megismételjük. Az acetonitriles fázisokat 1 l-es tefloncsappal ellátott választótölcsérbe gyűjtjük.

Az egyesített extraktumhoz 650 cm³ kétszer desztillált vizet, 40 cm³ telített nátrium-klorid oldatot és 100 cm³ petrolétert adunk. Szétválás után a vizes-acetonitriles fázist egy másik 1 l-es tefloncsapos választótölcsérbe engedjük, majd 100 cm³ petroléterrel újból extraháljuk. A vizes-acetonitriles fázist előntjük, a petroléteres fázist 2×100 cm³ kétszer desztillált vízzel mossuk, majd vízmentes nátrium-szulfát oszlopon való szárítás után Kuderna–Danish bepárló készüléken 1 cm³-re bepároljuk. A bepárlási maradékot 20 g Florisilt tartalmazó előkészített tefloncsapos oszlopra vesszük.

Florisil oszlop készítése: A kromatográfias oszlopba 50 cm³ petrolétert töltünk, majd ehhez 20 g 5 s% vízzel egyenletesen elkevert Florisilt lassan hozzáadagolunk. Az oszlopra ezután 1 cm vastagságban vízmentes nátrium-szulfátot rétegezzük. Az így nyert töltetet 50–100 cm³ petroléterrel átöblítjük, majd a mintát rárétegezzük.

Eluensként 200 cm³ 6 tf%-os éter-petrolétert használunk, melyet a Kuderna–Danish készülék gyűjtőlombikjába fogunk fel és 0,5–2,0 cm³-re koncentrálnak. Az így kapott mintából a szennyezők azonosítása, ill. mennyiségi meghatározása akár vékonyréteg-, akár gázkromatográfiasan közvetlenül elvégezhető.

Mivel ezt az eljárást a nemzetközi kereskedelmi forgalomban széles körben alkalmazzák, eredményeit a FAO/WHO tagországai elfogadják, célszerűnek látszik a módszer bevezetése hazai és KGST használatra is.

Adaptációjához és rutinvizsgálati célokra való elterjesztéséhez *elengedhetetlenül szükséges* a megfelelő érzékenyséű ellenőrzés (tesztelés), melynek eredményei alapján biztosítható

- a megfelelő felszerelés
- vegyszerellátás
- „jó analitikai gyakorlat” (good analytical practice)
- szubjektív hibák kiküszöbölése
- a vizsgáló hálózatokat *ellenőrző* (kontroll) eljárások kidolgozása.

A peszticidanalitika nemzetközi gyakorlatában a legkülönbözőbb módszereket alkalmazzák intra- és interlaboratóriumi programok keretében egy adott eljárás érzékenységének és megbízhatóságának ellenőrzésére (11, 12), továbbá – új növényvédőszeres és környezetszennyezők megjelenése miatt szükséges – fejleszhetőségének vizsgálatára (13). A legérzékenyebb eljárások egyike – bár nem a leggyakoribb – a radioizotópos ellenőrzés.

Vizsgálataink során az élelmiszermintákat felmelegítve ¹⁴C – DDT-vel, ill. ¹⁴C – DDE-vel szennyeztük oly módon, hogy a szennyezettség mértéke a nemzetközileg elfogadottnak 10-szerese, ill. 1/10-e legyen.

Az eredmények értékelése

Extrakció

Az 1975-ben kiadott AOAC módszerkönyv (10) peszticidmaradványok meghatározására élelmiszermintákban nagy víztartalom esetében acetonitrilt, nagy cukortartalmú, ill. kicsiny víztartalmú készítményeknél vizes acetonitrilt, nagy zsírtartalom esetén petrolétert javasol oldószerként.

Extrakciós vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy az eljárás gyakorlatilag kvantitatív; az eredmények jóval kisebb mérvű – csupán a radioaktivitás mérési módszerének hibája által megszabott – szórást mutattak, mint az az „intralaboratóriumi” gyakorlatban eddig tapasztalható volt (1. táblázat).

1. táblázat

DDT visszanyerése étkezési zsírmintákból petroléter-acetonitril
[folyadék-folyadék megoszlásnál]

Minta sorszama	Visszanyerés (%)
1	97
2	98
3	96
4	100
5	98
6	97
7	97
Átlag 98 ± 2	

Tisztítás. A készített minták tisztításának többféle módja (15–18) közül – színezőanyagot nem túl nagy mennyiségben tartalmazó minták esetében – a folyadék-folyadék megoszlás kielégítő és praktikus eljárás. Az AOAC tisztítási eljárásaival – ellenőrzésünk szerint – a szennyezők maradéktalanul visszanyerhetők (2. táblázat).

2. táblázat

DDT visszanyerése étkezési zsírmintákból vizes acetónitril-petroléter folyadék-folyadék megoszlásnál

Minta sorszáma	Visszanyerés (%)
8*	100
9	99
10	97
11	99
Átlag 98±2	

* Csak vizes acetónitril-petroléter folyadék-folyadék megoszlás esetén.

Nagy zsír- és kis színezékanyagtartalmú mintáknál a koextraktumok zavaró hatást nem mutattak (19). Ez a tisztítási eljárás gyorsabban végezhető, így rutinvizsgálatokra alkalmasabb, mint a különböző oszloptisztítási módszerek.

Pesticidok elválasztása. A módszerkönyvi előírás (10) a minták további tisztítására három eluens-rendszert ad meg, melyekkel a klórozott szénhidrogének 5%-osan dezaktivált Florisil oszlopon kvantitatíve elválaszthatók.

- 6% éter-petroléter (200cm³):
aldrin, BHC, DDE, DDD (TDE), o-, p-DDT, p, p'-DDT, heptaklór, heptaklór-epoxid, lindán, metoxiklór, mirex, pertan, PCB;
Foszfátészterek közül:
karbofention, etion és ronnel
- 15% éter-petroléter (200 cm³):
dieldrin és eldrin
Foszfátészterek közül:
diazinon, metil-paration, paration
- 50% éter-petroléter
Foszfátészter: malation

Habár a felsorolt klórozott szénhidrogén, ill. organofoszfát növényvédőszerre ezen mintakészítési eljárás kiválóan alkalmazható (a visszanyerés jóval több mint 80%), a teljes organofoszfát és karbamát növényvédőszer spektrumra mint *multi-módszer* mégsem megfelelő, mivel a visszanyerési százalék jó néhány esetben csupán 20–40% között mozog. Az eljárás bevált klórozott szénhidrogén szermaradványok és környezetszennyezők meghatározására, míg más növényvédőszer maradványainak és toxikus metabolitjainak meghatározására az adott csoportra vagy egyedi vegyületre megfelelő egyéb módszer alkalmazása célszerű.

Az AOAC módszerkönyv a petroléteres fázis szárítására granulált vízmentes nátrium-szulfátot ír elő. Tekintettel arra, hogy ez európai forrásból *nem* hozzáférhető, helyettesítésére alternatív eljárásokat dolgoztunk ki:

a) Ha az 1 l-es választótölcsérbe a leeresztő csap elé mintegy 1 cm Ø üvegfitet építünk be (G4), a művelet REANAL vízm. nátrium-szulfáttal történő

DDT visszanyerése különböző mértékben dezaktivált Florisil oszlopról

Minta sorszáma	Florisil dezaktiválás mértéke (%)	Visszanyerés (%)
1. 12	0	69
13	0	69
2. 14	2	69
15	2	70
16	2	74
3. 17	5	100
18	5	100
19	5	100

4. táblázat

DDT és DDE visszanyerése étkezési zsírmintákból

Minta sorszáma	Visszanyerés (%)
20	98
21	100
22	96
23	97
24	98
Átlag 98 ± 2	

5. táblázat

DDT és DDE visszanyerése vaj, sertészsír és étolaj mintákból

Minta		Visszanyerés (%)
sorszám	élelmiszer	
25	étolaj	100
26	étolaj	100
27	vaj	100
28	vaj	100
29	vaj	100
30	vaj	99
31	étkezési zsír	99
32	étkezési zsír	100

összerázással közvetlenül elvégezhető. Az így nyert minta gázkromatográfiás meghatározáshoz megfelelő.

b) Az ilyen eszköz hiányában a petroléter REANAL vízm. nátrium-szulfáttal 5 cm magasságig töltött 22 mm \varnothing oszlopon is szárítható. Az oszlop kis áteresztőképessége miatt azonban ez az eljárás lassúbb.

Az alkalmazott eluens-rendszer megfelelőségét bizonyítja, hogy a DDT, ill. a DDE elució görbéjének maximuma kb. azonos értékűnél van, és jelentős mértékű

változás nem tapasztalható az áramlási sebesség változtatásával sem (1. és 2. ábra).

A Florisil oszlopon történő elválasztás, amely egyben a tisztítási eljárás kiegészítése is, hatékony és megbízható; alkalmazása nagy rutint *nem* igényel (3. táblázat).

Figyelembe véve a vizsgált eljárás izotópos tesztelésének eredményét és *szórását*, tekintettel kis „rutinigény”-ére és megbízhatóságára, a módszert *kiváló*-nak tartjuk.

A hazai bevezetésre ajánlott eljárás megbízhatósága és alkalmazhatósága, valamint a nemzetközi kereskedelemben való elfogadhatósága a fenti kísérleti adatok alapján egyértelműen bizonyított (4. és 5. táblázat), és jól alkalmazható mind vékonyréteg, mind gázkromatográfiás mennyiségi és minőségi meghatározás esetében.

I R O D A L O M

- (1) *Bevenue A.*: Res. Rev., 61, 37, 1976.
- (2) Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission, 11th session, 1976., Hague 3–8 March, 1975.
- (3) *Rynolds L. M.*: Res. Rev., 34, 27, 1971.
- (4) *Drucker T., Ambrus A.*: MKE Növényvédőszer Analitikai Tudományos Értekezet, Budapest, 1977.
- (5) *Szabolcs L., Six L., Bende E.*: Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Intézetek II. Tudományos Konferenciája, Szeged, 1977.
- (6) *Simonffy Z., H.-né Jancsó E., V.-né Poroszlav B.*: ÉVIKE 23, 80, 1977.
- (7) *Vidács F.*: Konzerv- és Paprikaipar, 25, 55, 1977.
- (8) *Ari L.*: MKE Növényvédőszer Analitikai Tudományos Értekezet, Budapest, 1977.
- (9) *Márton A. F.*: Peszticidmaradványok meghatározása élelmiszerekben, Szimpózium, Budapest, 1977.
- Draskovics I., Márton A. F., Kulcsár F.*: ÉVIKE, 23, 186 1977.
- Márton A. F., Draskovics I., Kőmives T., Dutka F.*: ÉVIKE, 23, 238 1977.
- (10) Official Methods of Analysis: Publ. AOAC, Washington D. C. 1975. Chapter 29.
- (11) *Finstervalder C. E.*: JAOAC 59, 169, 1976.
- (12) *Stade P.*; *ibid.*, 59, 894, 1976.
- (13) *Burke J. A.*: *ibid.*, 59, 328, 1976.
- (14) *Winteringham F. P. W.*: „Pesticide Chemistry Proc. of the Second International Congress of Pesticide Chemistry” A. S. Tahori, Ed.: Gordon and Breach, New York, 1972. p. 367–78.
- (15) *Scheeter M. S. et al.*: Ind. Eng. Chem. Anal., 19, 51, 1947.
- (16) *Davidov B.*: JAOAC 33, 130, 1950.
- (17) *Clifford P. A.*: JAOAC, 30, 337, 1947.
- (18) *Fairing J. D., Warrington H. P.*: Adv. Chem. Ser., 1, 260, 1950.
- (19) *Draskovics I., Márton A. F.*: Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Intézetek II. Tudományos Konferenciája, Szeged, 1977.

ИЗОТОПНЫЙ КОНТРОЛЬ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ ХЛОРИРОВАННОГО УГЛЕВОДОРОДА II

А. Ф. Мартон., Т., Кемивеш И., Драшковиц и Ф. Дутка

Ограничение применения органохлорных пестицидов не принесло намеренный результат, так как уменьшение уровня загрязненности был на много ниже ожидаемого, нов международных условиях степень премлимой загрязненности устанавливают на более низкую величину. Это обосновывает необходимость адаптации надежно и рутинно применяемых методов и проверку условий их применимости. Проверка применения ^{14}C -ДДТ и ^{14}C -ДДЕ соответствует методическим указаниям АОАС с 1975-го года и однозначно свидетельствуют – на основании $98 \pm 2\%$ -ых зведений регенерации – об их пригодности в отечественных условиях.

ISOTOPISCHE KONTROLLE DER BESTIMMUNGSMETHODEN VON RÜCKSTÄNDEN DER PESTIZIDE VOM CHLORIERTEN KOHLENWASSER STOFF TYP. II.

A. F. Márton, T. Kőmives, I. Draskovics und F. Dutka

Die Begrenzung der Anwendung der Organochlor-Pestizide erreichte die gewünschten Resultate nicht, weil die Herabsetzung des Verunreinigungsniveaus viel geringer war als die erwartete. Trotzdem wird das Mass der annehmbaren Verunreinigung in internationalen Verhältnis in immer mehr und mehr niedrigeren Werten festgesetzt. Dadurch wird die Adaptierung der verlässlich und routinmässig anwendbaren Methoden und die Überprüfung der Bedingungen ihrer Verwendung begründet. Die Kontrolle des Methodenbuches vom AOAC vom Jahre 1975 mittels ^{14}C -DDT bzw. ^{14}C -DDE bewies eindeutig die Anwendbarkeit dieser Methode im ungarischen Verhältnis, auf Grund eines Rückgewinnungswertes von $(98 \pm 2\%)$.

CONTROL BY ISOTOPES OF THE METHODS FOR THE DETERMINATION OF RESIDUES OF PESTICIDES OF CHLORINATED HYDROCARBON TYPE. II.

A. F. Márton, T. Kőmives, I. Draskovics and F. Dutka

The restriction of the use of pesticides of organochlorine type did not give the desired results because the decrease of the level of contamination was of an extent much smaller than the expected one. In contrast to that, the degree of the acceptable contamination is lowered ever more and more internationally. This makes reasonable the adaptation of the methods which are reliable and can be applied in routine tests, and the supervision of the conditions of their application. The control of the Book of Methods of the AOAC issued in 1975 carried out with the use of ^{14}C -DDT and ^{14}C -DDE, respectively, proved unequivocally, on the basis of recovery values of $98 \pm 2\%$, the suitability for use of this book in Hungarian relations.