

KVANTITATIVNO ODREĐIVANJE TRAGOVA PESTICIDA U NEKIM SIROVINAMA ZA PRIREĐIVANJE DJEČJE HRANE

L. J. MARČELJA i A. DÜRRIGL

*Kontrolno-analitički sektor, Tvornica kemijsko-farmaceutskih proizvoda
Pliva, Zagreb*

Primijenjena je metoda izravnog kvantitativnog određivanja pesticida nakon njihovog odjeljivanja tankoslojnom kromatografijom. Budući da DDT i njegovi homolozi apsorbiraju u ultravioletnom dijelu spektra, izvršena je analiza smjesa ovih pesticida poznatog sadržaja metodom mjerenja remisije ultravioletnog zračenja. Određena je optimalna valna duljina za analizu i ispitana ovisnost površine ispod snimljene krivulje remisije o koncentraciji pesticida. U analizi uzoraka koji se priređuju na uobičajeni način, ova se metoda zbog interferencija ne može primijeniti. Zato je pokušao niz obojenih reakcija i snimana je remisija tako dobivenih mrlja. Diskutira se o ovisnosti remisije o količini uzorka, reproducibilnosti, točnosti te osjetljivosti tih metoda.

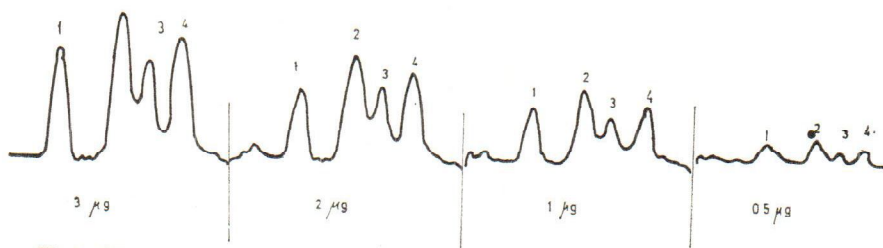
U analitici tragova pesticida tankoslojna kromatografija zauzima značajno mjesto. Jedini nedostatak bilo je donedavno subjektivno i polukvantitativno izražavanje rezultata. Moderni instrumenti prilagođeni ovoj tehnici omogućuju objektiviranje i kvantitativno izražavanje rezultata.

U ovom radu obuhvaćeno je osam kloriranih ugljikovodika: dieldrin, γ -HCH, α -HCH, p,p,-DDD, o,p,-DDT, p,p,-DDT, DDE i aldrin. Ovi su spojevi analizirani pojedinačno i u smjesi. Kromatografija na tankom sloju izvršena je prema FDA priručniku za analizu pesticida, samo što je umjesto vode upotrijebljen aceton u smjesi za pripremu ploča, a ploče su priređene uranjanjem u smjesu, čime se postiže tanji sloj, tj. veća osjetljivost.

Instrument za izravno snimanje mrlja je kromatogramspektralfotometar tvrtke »Opton«, koji na jedan od načina rada omogućuje monokromatsko obasjavanje mrlje pod pravim kutem, a difuzno remitirano zračenje detektira se pod kutem od 45° . Pisač registrira promjenu remisije na određenom mjestu mrlje u odnosu na pozadinu.

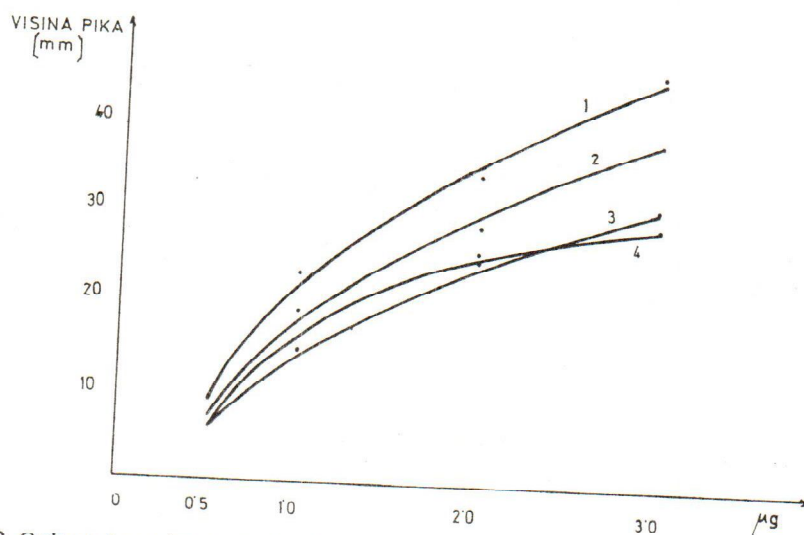
Budući da DDT i njegovi homolozi DDD i DDE apsorbiraju UV zračenje analizirana je smjesa ovih 4 pesticida različitog poznatog sadržaja kod 237 nm, što je za analizu optimalna valna duljina. Sl. 1. prikazuje

dijagram remisije pojedinih uzoraka uz eksperimentalne podatke, a sl. 2. je grafički prikaz ovisnosti remisije o količini pojedinih pesticida u području od 0,5–3,0 μg . Budući da su prisutne male količine pesticida, može se izvršiti jednostavna korekcija prekrivanja krivulja, a kao varijabla ovisna o količini može se s dovoljnom točnošću uzeti visina remisije krivulje. Zakrivljeni tok ovih baždarnih dijagrama kod niskih koncentracija vjerojatno je posljedica praga osjetljivosti određivanja pri ovim eksperimentalnim uvjetima. Analiza uzoraka, koji se pripremaju na propisani način onemogućena je zbog jake apsorpcije osnovnog materijala, koji prekriva cijelo područje od starta do fronte, a koja vjerojatno potječe od onečišćenja u uzorku i kemikalijama.

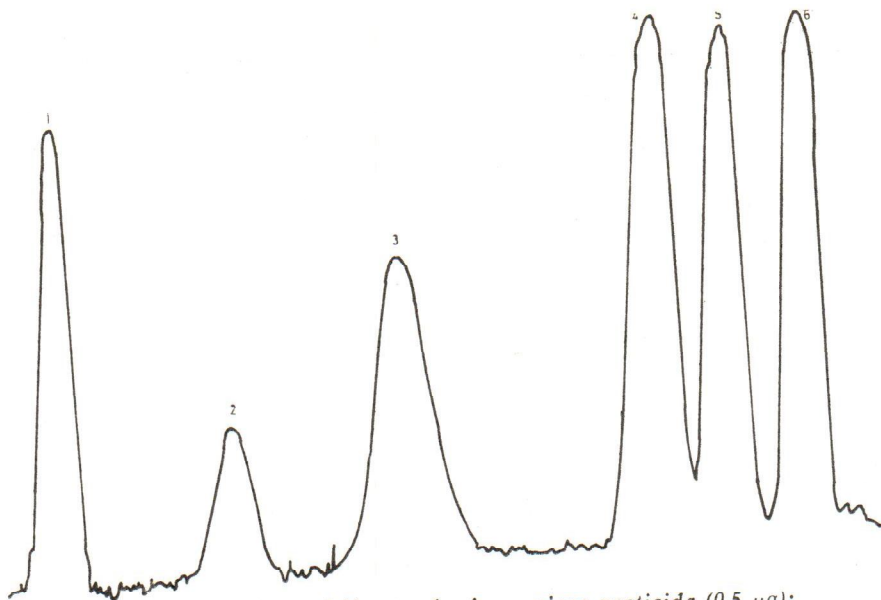


Sl. 1. Dijagram remisije: 1 — DDT; 2 — *p,p'*-DDT; 3 — *o,p'*-DDT; 4 — DDE

Način mjerenja: monokromator — proba — detektor (M—Pr)
Valna duljina: 450 nm
Slit: 10×0,3 mm
Brzina pomicanja ploče: 30 mm/min
Brzina pomicanja dijagram papira pisača: 120 mm/min



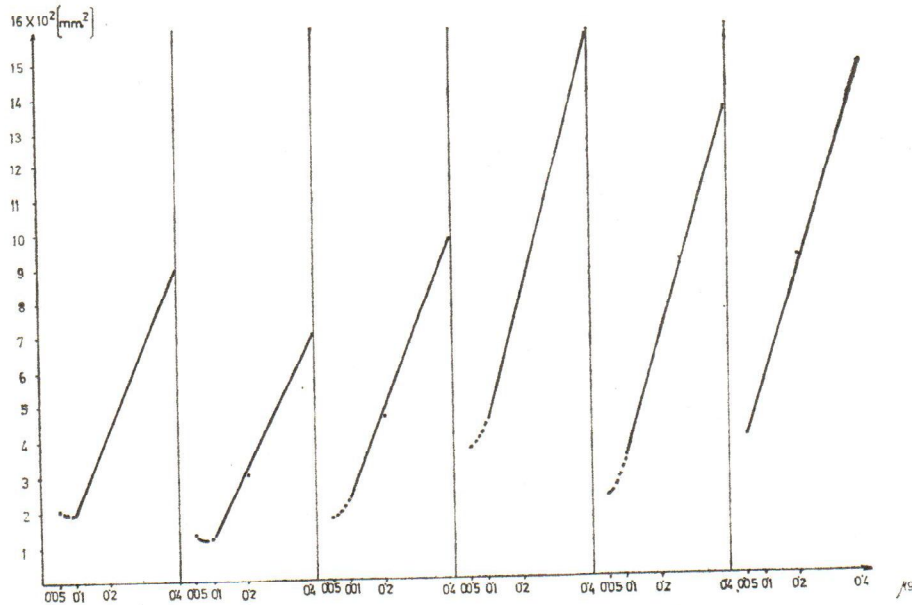
Sl. 2. Ovisnost remisije o količini (0,5–3,0 μg) pojedinog pesticida: 1 — *p,p'*-DDT; 2 — DDE; 3 — *o,p'*-DDT; 4 — DDE



Sl. 3. Dijagram remisije standardne smjese pesticida (0,5 μg):

oznaka i ime	rel. std. dev. (%)	oznaka i ime	rel. std. dev. (%)
1 — dieldrin	1,4	4 — o,p'-DDT	4,5
2 — γ -HCH	3,6	5 — p,p'-DDT	7,2
3 — α -HCH i DDD	9,4	6 — DDD i aldrin	6,9

Način mjerenja: monokromator — proba — detektor (M-Pr); Valna duljina: 450 nm; Slit: 6x0,3 mm
 Brzina pomicanja ploče: 50 mm/min; Brzina pomicanja dijagram papira pisača: 120 mm/min

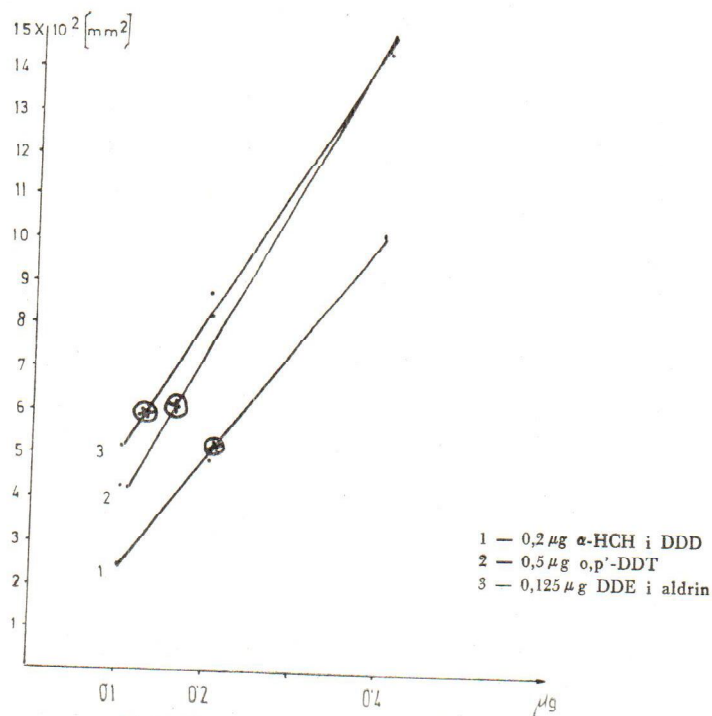


Sl. 4. Ovisnost remisije o količini pojedinog pesticida (0,05—0,40 μg):

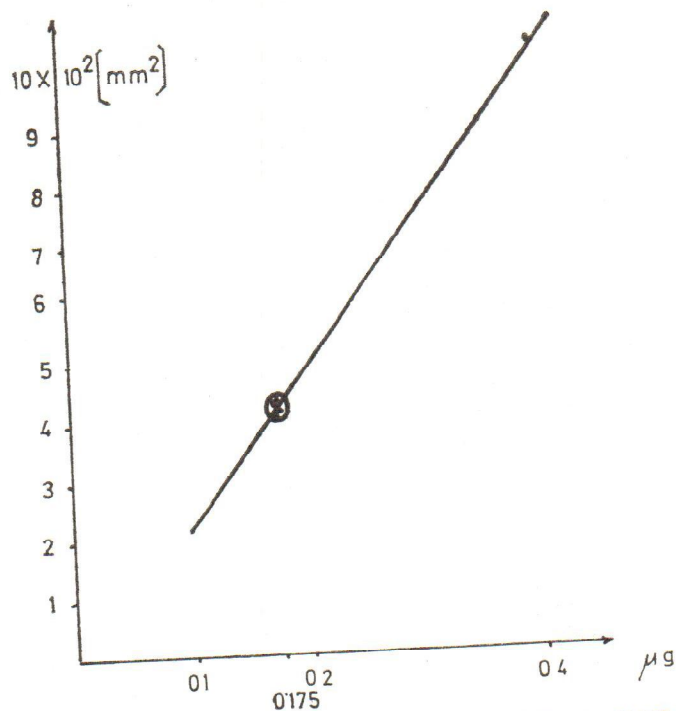
1 — dieldrin; 2 — γ HCH; 3 — α -HCH; DDD; 4 — o,p,-DDT; 5 — p,p,DDT; 6 — DDE i aldrin

Stoga je primjenjena metoda bojenja o-toluidinom kao reagensom. α - i γ -HCH su dobro izraženi i različito su obojeni od ostalih pesticida, što je prednost kod vizuelne analize, a osim toga mogu se na taj način razlikovati α -HCH i DDD koji se ako su u smjesi prisutni prekrivaju, jer imaju slične Rf vrijednosti. Zbog malih interferencija osnovnog materijala ova bi se metoda mogla primijeniti i za direktnu kvantitativnu analizu ovih dvaju pesticida, a i kao pomagalo kod analize pesticida plinskom kromatografijom. Za sada se ovom metodom koristimo samo polukvantitativno, jer treba još riješiti pitanja reproducibilnosti obojenja i osjetljivosti određivanja. Osim toga, cilj je ovog rada bio da se pod istim eksperimentalnim uvjetima na što jednostavniji način omogući analiza svih eventualno prisutnih spomenutih pesticida.

Primijenjena je zato metoda označavanja mrlja sa AgNO_3 . Prskanje je odbačeno zbog nereproducibilnosti i nejednolikosti zacrnjenja, te je reagens dodan u smjesu za pripremu ploča. Ali istodobno počinje i raspad AgNO_3 , sastav podloge se mijenja i efekt razdvajanja pesticida je različit. Ako se, naime, ploča pripravi sa svježom smjesom dobiva se 6, a katkada i 7 mrlja; u tom se slučaju prekrivaju α -HCH i DDD. Kad se ploča pripravi iz smjese koja nije starija od 3 dana dobiva se većinom



Sl. 5. Radni baždarni dijagram analize slada:



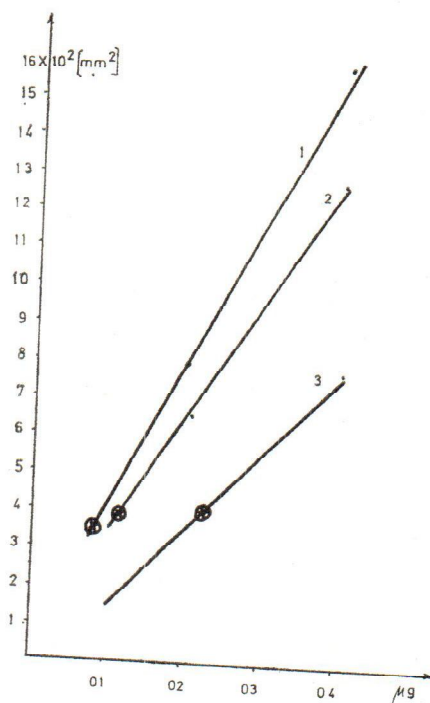
Sl. 6. Radni baždarni dijagram analize masti ($0,175 \mu\text{g}$ α -HCH i DDD)

7 mrlja, γ -HCH je jače izražena, a prekrivaju se DDE i aldrin. Nakon 3 dana smjesa znatno potamni i više nije upotrebljiva. Eksperimenti, kojima se sada ispituje ova kinetika aktiviteta ploče, imaju za cilj da se postignu optimalni uvjeti reproducibilnosti i razdvajanja svih prisutnih komponenata. Dok se taj problem ne riješi zadovoljava privremeno rješenje, koje se sastoji u tome da se ploče pripreve iz 3 dana stare smjese i pohrane u eksikator. Dobiva se uvijek 6 mrlja, a prekrivaju se α -HCH i DDD, te DDE i aldrin. Mrlje su oštre i jednoličnog zacrnjenja, što uzrokuje znatno manji šum pisaa instrumenta i pravilniji izgled krivulje remisije. Snimanje se vrši na prije spomenuti način kod valne duljine od 450 nm. Tipični dijagram remisije za $0,5 \mu\text{g}$ standardne smjese pesticida i odgovarajuće relativne standardne devijacije određivanja prikazuje sl. 3, a sl. 4 prikazuje ovisnost remisije o količini pojedinog pesticida u području od $0,05$ do $0,40 \mu\text{g}$. Na ordinatu je nanjena površina kao produkt visine i širine na polovici visine krivulje. »S-oblik« ovih baždarnih krivulja kod niskih koncentracija uvjetovan je jakom apsorpcijom podloge. Granica detekcije je za γ -HCH $0,05 \mu\text{g}$, a za ostale pesticide

0,025 μg ; ne smije se dakako zaneimariti činjenica da je učinjena greška, jer se α -HCH i p,p'-DDD, te DDE i aldrin izražavaju zajedno.

U dosadašnjem radu analizirali smo tom metodom nekoliko sirovina za pripremu dječje hrane. Rezultati analize redovito se uspoređuju s rezultatima dobivenim plinskom kromatografijom. Sl. 5. prikazuje primjere radni baždarni dijagram analize slada gdje se vidi prisutnost 0,2 μg α -HCH i DDD, 0,125 μg DDE i aldrina i 0,15 μg o,p'-DDT, sl. 6. analizu masti s oko 0,175 μg α -HCH i DDD, a sl. 7. analizu brašna koje, kao što se vidi sadrži 0,08 μg o,p'-DDT, 0,1 μg p,p'-DDT i 2,3 μg γ -HCH (uzorak je, naime, za ovu analizu 10 puta razrijeđen, da bi se došlo u područje linearosti).

Iako se zbog spomenutog problema efikasnosti razdvajanja svih prisutnih pesticida ne može dati konačna ocjena ovoj metodi, ipak treba istaći da je, uz određene pretpostavke omogućeno kvantitativno određivanje pesticida izravno na tankom sloju, koje u kombinaciji s plinskom kromatografijom daje dovoljno pouzdane podatke o njihovoj prisutnosti u ispitivanim uzorcima.



Sl. 7. Radni baždarni dijagram analize brašna:
1 - 0,08 μg o,p'-DDT; 2 - 0,1 μg p,p'-DDT; 3 - 2,3 μg γ -HCH

Summary

QUANTITATIVE ANALYSIS OF PESTICIDE RESIDUES IN SOME RAW MATERIALS USED IN BABY FOODS PRODUCTION

The method of direct quantitative determination of pesticides after their separation by TLC was applied. Since DDT and its homologues absorb in the ultraviolet region of the spectrum, a mixture of known amounts of pesticides was analysed using the method of the remitted UV radiation. The optimal wavelength for this analysis was determined and the dependence of the area under the recorded curve on the quantity of pesticides established.

Because of interferences this method is not applicable for analysis of unknown samples prepared by usual procedures. Therefore a series of coloured reaction was attempted. The remission of spots obtained in this way was recorded. The relationship between remission of light and quantity, the reproducibility, accuracy and sensitivity of these methods are discussed.

*Control-Analytical Department, Pliva,
Pharmaceutical and Chemical Works, Zagreb*