

CHROM. 14,763

Note

Bestimmung von Gardona in pflanzlichen Produkten unter Anwendung der Gas-Flüssigkeitschromatographie

P. WASSILEVA-ALEXANDROVA*, A. NEJITSHEVA, E. KOVATSHEVA und G. MARUDOV
Hochschule für Lebensmittelindustrie, Plovdiv (Bulgarien)
(Eingegangen am 29. Dezember 1981)

Das Pestizid Gardona (2-Chlor-1-(2,4,5-Trichlorphenyl)-Vinyl-dimethoxyphosphat) weist eine gute selektive Insektizidaktivität und eine niedrige Warmblüttertoxizität auf und gehört zur Gruppe der langsam zerfallenden phosphororganischen Insektizide. Es wird vielfach als Schädlingsbekämpfungsmittel bei Obst, Gemüse und Futtermitteln eingesetzt. Die Bestimmung dieses Insektizids erfolgt durch Dünnschichtchromatographie^{1,2}, Gaschromatographie^{3,4} und spektrophotometrische Verfahren. Am zuverlässigsten ist jedoch die Methode der Gas-Flüssigkeitschromatographie, die durch hohe Empfindlichkeit gekennzeichnet ist. In unserer Arbeit setzten wir uns deshalb zum Ziel, ein analytisches Verfahren auszuarbeiten, das sich zur Serienbestimmung von Gardonarückständen in Pflanzenprodukten eignet und effektive Extraktion, Reinigung und günstige gaschromatographische Bedingungen miteinschließt.

EXPERIMENTELLES

Substanzen und Reagenzien

Wir verwendeten Gardona (98.8% β -Isomer), ethanolische Lösungen in Konzentrationen 10, 25 und 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ (Shell), Chloroform, Aceton, Petrolether und Acetonitril. All eingesetzten Reagenzien sind p.a. Qualität.

Geräte

Ein Gaschromatograph GCV (Pye Unicam) wurde verwendet.

Arbeitsweise

Nicht mit Gardona behandelte Äpfel der Sorte Golden Noble werden mit einem Mixer homogenisiert. Dem erhaltenen Brei werden Proben zu 50–100 g entnommen und mit entsprechend 10, 25 und 50 g Gardona durch Zugabe von 1 cm^3 Lösung in Konzentrationen von 10, 25 und 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ angereichert. Die Extraktion des Pestizids erfolgt durch Behandlung der Probe mit 50 cm^3 Acetonitril innerhalb von 15 min auf Schüttelapparat und Abfiltrieren über Silikagelschicht. Das Filtrat wird zu 100 cm^3 einer 5%igen Natriumchlorid-Lösung in einen Scheidetrichter gegeben. Das Pestizid wird aus der erhaltenen Lösung zweimal mit je 50 cm^3 Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformextrakte werden über Natriumsulfat im Laufe von 10 min

getrocknet und durch Blauband-Filter abfiltriert. Das Filtrat wird bei 40°C zur Trockne gedampft. Die Reinigung der Pflanzenextrakte erfolgt nach zwei Verfahren: durch Säulenchromatographie und durch Einfrieren bis -20°C. Die säulenchromatographische Reinigung der Pflanzenextrakte erfolgt durch eine quantitative Übertragung des fast zur Trockne eingedampften Rückstandes mit Chloroform auf eine 10-mm Säule und 5 g Adsorbens (10 g bei 130°C aktiviertes Phlorizin, 8 g Zylit, 1 g Aktivkohle und 10 g wasserfreies Natriumsulfat). Die adsorbierten Stoffe werden mit Chloroform bei einer Geschwindigkeit von 3 cm³/min eluiert. Die ersten 5 cm³ Eluat werden weggeschüttet und die nachfolgenden 35 cm³ bei 40°C zur Trockne eingedampft. Der Trockenrückstand wird in einer Hexanmenge derart aufgelöst, dass Lösungen mit einer Konzentration von etwa 10 µg/cm³ erhalten werden.

Die Reinigung der Pflanzenextrakte durch Gefrieren bis -20°C erfolgt wie bereits eingehend in Lit. 5 beschrieben.

Aliquote der gereinigten Lösungen werden gaschromatographisch nach Gardonagehalt unter folgenden Bedingungen untersucht: eine 2 m × 2 mm Glassäule; stationäre Phase 3% SE-30, auf Chromosorb-Füller VV (100-120 Maschen).

Die Detektionssysteme sind: (1) Elektroneneinfangdetektor; Säulentemperatur 210°C; Detektortemperatur 300°C und Injektortemperatur 210°C; Geschwindigkeit des Trägergases Stickstoff 75 cm³/min. (2) Flammenphotometrischer Detektor mit einem Aufsatz zur Phosphorbestimmung; Säulentemperatur 190°C; Detektortemperatur 200°C und Injektortemperatur 210°C. Geschwindigkeit des Trägergases Stickstoff 75 cm³/min und die von Wasserstoff 30 cm³/min.

Als Anzeigerreagens wird die Lösung des Gardonas in Hexan in einer Konzentration von 10 µg/cm³ herangezogen. Die Mikrospritzen zum Einspritzen von Proben aus Pflanzenprodukten und der Anzeiger haben Volumen von 1-10 µl.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die quantitative Bestimmung der Pestizide in Pflanzenprodukten ist von der Art ihrer Extraktion, von den Reinigungsbedingungen der Extrakte und den die endgültige Bestimmung hindernden Stoffen abhängig. Um die optimale Extraktionsmenge an Gardona in Pflanzenprodukten zu bestimmen, führten wir die Extraktion mit unterschiedlichen in der Literatur beschriebenen Lösungsmitteln^{1,6,7} durch, die für phosphororganische Pestizide am geeignetesten erscheinen: Hexan, Petroläther, Aceton und Chloroform. Die vergleichende Untersuchung zeigte einen hohen Extraktionsgrad mit jedem der bereits angeführten Lösungsmittel. Wir bevorzugten jedoch das Chloroform als mehr zugänglich und weniger toxisch.

Leitet man in ein Pestizid enthaltendes Polarlösungsmittel Wasser und anschliessend nichtpolares Lösungsmittel ein, so geht das Pestizid ins nichtpolare Lösungsmittel über, während im polaren der grösste Teil der Verunreinigungen zurückbleibt^{8,9}. Aus diesem Grunde untersuchten wir die Reaktion des Gardonas mit Chloroform aus dem System Acetonitril-Wasser. Die erhaltenen Ergebnisse vergleichen wir mit jenen der nur mit Chloroform durchgeführten Extraktion (Tabelle I). Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist eine bessere Extraktion des Gardonas durch Chloroform aus dem System Acetonitril-Wasser zu erzielen. Durch die Umlagerung des Gardonas vom Acetonitril-Wasser-Medium in Chloroform wird auch eine gewisse Reinigung des primären Extraktes erreicht.

TABELLE I
EXTRAKTION DES GARDONAS AUS ÄPFELN

<i>Extraktion aus 100 g Äpfeln</i>	<i>Gardona (μg)</i>		<i>% der Nachweisbarkeit</i>
	<i>Zugesetzt</i>	<i>Gefundenen Mittelwert von 20 Bestimmungen</i>	
Chloroform	25.0	22.8	91.2
Chloroform aus dem System Acetonitril-Wasser	25.0	23.8	95.2

Die auf die beschriebene Weise gewonnenen Pflanzenextrakte enthalten immer noch grosse Mengen an Wachsen, Pigmenten und anderen Stoffen, die die quantitative Bestimmung des Insektizids wesentlich erschweren. Zu deren Trennung von den das Pestizid enthaltenden Extrakten setzten wir die Methode der Säulenchromatographie und des Einfrierens bei niedrigen Temperaturen ein.

Zur Ermittlung der Bedingungen für die beste Reinigung durch Säulenchromatographie prüften wir unterschiedlich zusammengesetzte, auch von anderen Autoren^{3,4,10} empfohlene Adsorbentia. Den besten Prozentsatz der Nachweisbarkeit ergab die Reinigung der Pflanzenextrakte durch die im Experimentellen bereits beschriebene Säule 1 und durch eine Säule mit 5 g Phlorizin, über das ein Gemisch aus 2.5 g Al_2O_3 , 2.5 g Phlorizin und 2 g wasserfreiem Natriumsulfat (Säule 2) eingeleitet wurde. Die in Tabelle II angeführten Ergebnisse zeigen, dass sich beide Chromatographiesäulen zur Reinigung der grosse Mengen an Wachsen enthaltenden Extrakte aus Äpfeln und Birnen eignen. Bei der Reinigung mit der bisher in der Literatur nicht erwähnten Säule 2 erhielten wir stets farblose Extrakte.

Die beste säulenchromatographische Reinigung der Pflanzenextrakte verglichen wir mit der Reinigung durch Gefrieren bis -20°C . Die Paralleluntersuchungen erfolgten mit gleichen oder kleineren Gardonamengen als die in Pflanzenobjekten zulässigen Insektizidrückstände. Die in Tabelle III angeführten Ergebnisse weisen darauf hin, dass der Prozentsatz der Nachweisbarkeit bei der Anwendung der Säulenchromatographie etwas höher ist. Da jedoch die Reinigung durch Gefrieren bis -20°C eine kürzere Prozedur und einen kleineren Verbrauch an Reagenzien erfordert, betrachten wir beide Methoden als gut geeignet für die Reinigung von Obstextrakten.

Die endgültige quantitative Bestimmung des Gardonas in den gereinigten Pflanzenextrakten erfolgte durch Gas-Flüssigkeitschromatographie. Als Anzeigesy-

TABELLE II
GEHALT AN GARDONA IN ÄPFELN BEI REINIGUNG DER EXTRAKTE DURCH SÄULENCHROMATOGRAPHIE

<i>Reinigung der Extrakte durch</i>	<i>Gardona, zugesetzt zu 100 g Äpfeln (μg)</i>	<i>Gardona, gefunden (μg)</i>	<i>% der Nachweisbarkeit</i>
Säule 1	25.0	23.8	95.2
Säule 2	25.0	23.5	94.0

TABELLE III

GEHALT AN GARDONA IN ÄPFELN, BESTIMMT MIT GAS-FLÜSSIGKEITSCROMATOGRAPHIE BEI UNTERSCHIEDLICHER REINIGUNG DER EXTRAKTE

Reinigung durch	Gardona, zugesetzt zu 100 g Äpfeln (μg)	Gardona, gefunden (μg)	% der Nachweisbarkeit
(a) Gefrieren bei -20°C			
Probe 1	50.0	47.3	94.6
Probe 2	25.0	23.4	93.6
Probe 3	10.0	9.1	91.0
(b) Säulenchromatographie			
Probe 1	50.0	48.4	96.8
Probe 2	25.0	23.8	95.2
Probe 3	10.0	9.2	92.0

steme benutzten wir Elektroneneinfang- und flammenphotometrischen Detektor. Um eine geeignete stationäre Phase auszuwählen, erprobten wir drei flüssige Phasen mit unterschiedlicher Polarität: QF-1 (5%); OV-17 (3%) und SE-30 (3%). An den drei gaschromatographischen Säulen erzielten wir bei fast gleicher Empfindlichkeit der Bestimmung eine gute Trennung des Gardonas von den restlichen störenden Stoffen. Die stationäre Phase SE-30 (3%) wurde wegen der günstigeren Arbeitsbedingungen (Temperatur 190°C) vor den flüssigen Phasen 3% OV-17 (240°C) und 5% QF-1 (250°C) bevorzugt. Die ermittelten optimalen gaschromatographischen Bedingungen für die Bestimmung des Gardonas unter Anwendung von Elektroneneinfang- und flammenphotometrischem Detektor sind oben angeführt. Fig. 1 zeigt die bei der

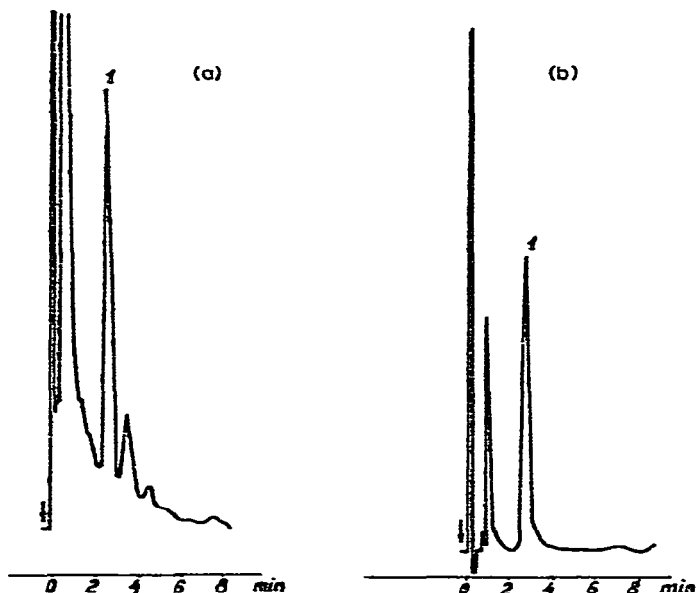


Fig. 1. Typisches Chromatogramm eines Apfelextraktes (Probe 100 g), angereichert mit $25 \mu\text{g}$ Gardona, nach Reinigung durch Säulenchromatographie: (a) unter Benutzung von Elektroneneinfangdetektor und (b) unter Benutzung von Flammenphotometrischen Detektor. 1 = Gardona.

Analyse des Gardonas im Extrakt aus Äpfeln unter Einsatz der erwähnten Detektoren erhaltenen Chromatogramme. Daraus lässt sich ersehen, dass die Empfindlichkeit des flammenphotometrischen Detektors gegen die störenden Stoffe niedriger ist im Vergleich zu dem Elektroneneinfangdetektor, was eine kürzere analytische Prozedur der Reinigung der Pflanzenextrakte (durch Gefrieren bis -20°C) und der angewendeten Lösungsmittel erlaubt.

Die Empfindlichkeit der Bestimmung unter Benutzung beider Detektorsysteme ist hoch (0.0025 mg/kg bei dem flammenphotometrischen Detektor und 0.0005 mg/kg bei dem Elektroneneinfangdetektor) und ermöglicht eine quantitative Bestimmung unter den zulässigen Gardonarückständen in Pflanzenprodukten (0.5 mg/kg).

Die Reproduzierbarkeit und die Genauigkeit der Methode unter Anwendung der Gas-Flüssigkeitschromatographie (flammenphotometrischen Detektors) wurde durch 20 Parallelbestimmungen des Gardonagehaltes in 100 g nach der Methode der Säulenchromatographie gereinigten und an 25 g Gardona angereicherten Äpfelextrakten bestimmt.

Die erhaltenen Ergebnisse wiesen nach statistischer Bearbeitung zufriedenstellende Genauigkeit (Relativfehler 4.8%) und Reproduzierbarkeit (relative Standardabweichung 5.2%) auf.

LITERATUR

- 1 G. F. Wjilegšanina und L. S. Kejisler, *Zh. Anal. Khim.*, 3 (1975) 590.
- 2 L. G. Gwosdikova, *Konserv i ovost, prom-st.*, 12 (1977) 34.
- 3 G. F. Wjilegšanina, R. G. Kalmjikova und L. S. Kejisler, *Tr. 2-oe vses. sovestanie po isledovaniju ostatkov pesticidov i profilaktike sagrjasnenija imi produktov pitaniija, kormov i vneschnoi sredji*, Tallin, (1971) 151.
- 4 I. E. Fahey, P. E. Nelson und D. L. Ballee, *J. Agr. Food Chem.*, 18 Nr. 5, (1970) 866.
- 5 P. S. Wassileva-Alexandrova und A. Nejitscheva, *Nahrung* (1981) im Druck.
- 6 J. Desmarchelier, *Pestic. Sci.*, 8 (1977) 473.
- 7 R. M. Stimac, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 62 (1979) 85.
- 8 T. Lipowska, S. Kubacki und W. Coshch, *Pr. Inst. Lab. Badaw. Przem. Spozyw.*, 25 (1975) 3.
- 9 R. W. Storherr, P. Qtt und R. R. Watts, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 54 (1971) 513.
- 10 H. P. Burchfield und E. E. Storrs, *J. Chromatogr. Sci.*, 13 (1975) 202.