

ЗАСТОСУВАННЯ КАПІЛЯРНОГО ЕЛЕКТРОФЕРЕЗУ ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ В НАСІННІ СОНЯШНИКУ ГЕРБІЦИДІВ КЛАСУ ХЛОРФЕНОКСИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

І.В. Левчук, здобувач,

М.І. Осейко, д-р техн. наук (НУХТ, Київ)

Запропонований метод капілярного зонального електрофорезу для ідентифікації та кількісного визначення гербіцидів групи 2,4-Д феноксикарбованих кислот в насінні соняшнику. Показано, що цей метод має суттєву перевагу над іншими аналітичними методами.

Предложен метод капиллярного зонального электрофореза для идентификации и количественного определения гербицидов группы 2,4-Д феноксикарбованих кислот в семенах подсолнечника. Показано, что метод имеет существенное преимущество перед другими аналитическими методами.

The method of capillary zone electrophoreses is offered for authentication and quantitative determination of herbicides of group of 2,4-D chlorphenoxy acids in the seed of sunflower. It is shown that this method has substantial advantage before other analytical methods.

Аналіз сучасних технологій вирощування та подальшої переробки насіння олійних культур, зокрема насіння соняшнику [1], показує, що інноваційні технологічні процеси щодо олійно-рослинної сировини мають широкі перспективи впровадження в олійно-жирову та суміжні галузі харчової промисловості [2 - 5].

Постановка проблеми у загальному вигляді. На сьогоднішній день в Україні широко використовується системний гербіцид нового покоління на основі (діюча речовина) 2,4Д, дикамба так називаємий Дикам Плюс та гербіцид Ультра 730 на основі 2,4-дихлороцтової кислоти та ін. Феноксикарбонові кислоти (ФКК) - клас органічних сполук, що застосовуються як гербіциди, відноситься до середньо токсичних сполук. Гербіцидна активність ФКК сильно збільшується якщо замісниками у бензольному кільці являються галогени, зокрема атоми хлору в положеннях 2-, 4-, 5-. Необхідно відмітити, що в ряду представників цього класу спостерігається віддалена токсична дія, а у такого препарату як 2, 4, 5- Т ембріотропна дія [6].

Для аналізу гербіцидів класу ФКК використовують, в основному, газову і вискоєфективну рідинну хроматографію. Проте ці методи характеризуються складностями аналізу та високою собівартістю досліджень.

У зв'язку з розповсюдженням застосуванням гербіцидів зрозумілою є необхідність у швидких і надійних методах аналізу щодо визначення залишкових кількостей ФКК і продуктів їхнього розкладу, багато з яких теж являються токсичними для оточуючого середовища.

Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми. Хроматографічні методи є одними з найбільш поширених аналітичних методів, що застосовуються для визначення більшості груп пестицидів тощо [1-3]. Вони характеризуються високою чутливістю та селективністю. Але високі вимоги до реактивів, обладнання та кваліфікації персоналу, а також складна і тривала пробопідготовка ускладнюють проведення аналізу і значно підвищують його собівартість. При визначенні похідних хлорфеноксицтових кислот методом газорідинної хроматографії необхідно проводити дериватизацію екстракту із застосуванням дорогих хімічних реактивів. З метою підвищення надійності і достовірності ідентифікації доцільно використовувати колонки різної полярності. Враховуючи все це, бажано проводити дослідження без проміжних стадій, а так як ці сполуки відносяться до не летких, логічним є застосування вискоєфективної рідинної хроматографії [2, 7].

Детектування в ближній УФ області спектру завжди супроводжується певними труднощами із-за значного впливу супутніх сполук і продуктів їх розкладу на визначення досліджуваних ФКК. Аналіз цим методом вимагає використовувати дорогі органічні розчинники та сучасне обладнання, яке дає змогу забезпечити високу ефективність розділення (градієнтний режим, дорогі хроматографічні колонки і т.п.). Для деяких похідних ФКК, які є сполуками одного класу, мають схожі структурні формули і відрізняються тільки місцем заміщення для атому хлору, ефективності колонки недостатньо для їхнього задовільного розділення. Що стосується ідентифікації сполук з близькими властивостями, то більш доцільним є застосування діодно-матричного детектора, який дає змогу реєструвати весь спектр поглинання, а також порівнювати відповідність отриманих спектрів з бібліотекою.

Менш дорогими і популярними є фотометричні методи і тонкошарова хроматографія, які характеризуються значними витратами реактивів і необхідністю застосування специфічних реагентів. Вони вимагають старанної підготовки проби, дотримання певних умов при проведенні аналізу, але

являються напівкількісними, не дають змоги достовірно ідентифікувати гербіцид і тому не відповідають вимогам сучасної аналітики.

Формулювання цілей статті. Метою нашої роботи є застосування сучасних аналітичних методів для визначення гербіцидів - похідних ФКК в насінні олійних культур, зокрема в насінні соняшнику. Робота пов'язана з комплексними дослідженнями сировини, продуктів і екстрактів на молекулярному рівні (напряв Ф25.4.101).

Виклад основного матеріалу дослідження.

Для вилучення гербіцидів із насіння олійних культур застосували класичну екстракцію 2,4Д з гідролізованої проби органічним розчинником в кілька етапів та твердо фазну екстракцію (ТФЕ) на картриджі із зворотно фазовим сорбентом C_{18} . За допомогою цього методу можна виявити гербіциди групи 2,4Д, які знаходяться в пробі як у вільному стані, так і в зв'язаному у вигляді кон'югатів з ендогенними речовинами рослинного походження. Саме ці кон'югати заважають проведенню аналізу методом імуноферментного аналізу та методом вискоефективної рідинної хроматографії. ФКК і ендогенні речовини повністю адсорбуються на зворотній фазі, тоді як десорбція останніх при елюванні ацетоном тільки часткова, а для досліджуваних похідних ФКК складає майже 100 %.

Серед можливих схем електроміграційного розділення по простоті, розповсюдженості і практичному значенню особливе місце займає капілярний зональний електрофорез (КЗЕ) [8,9], який і використаний нами в даному дослідженні.

На електрофоретичний рух іонів в капілярі як правило впливає електроосмотичний потік (ЕОП) - рух самого буферного розчину під дією прикладеної напруги, який здійснює пасивний перенос зони компонентів проби. Складністю при аналізі методом капілярного електрофорезу являється врахування вкладу всіх можливих факторів електрохімічного процесу, які впливають на швидкість ЕОП (концентрація і рН електроліту, напруга прикладеного електричного поля, в'язкість буферного розчину, величина діелектричної проникності середовища і т. і.)

Електрофоретичне розділення в зональному виконанні методу можливе тоді, коли досліджувані компоненти знаходяться у вигляді іонів, які мають значний ефективний заряд і відповідно значну електрофоретичну рухливість, що відрізняється від швидкості ЕОП. Необхідно в залежності від рН сполук визначити рН і концентрацію ведучого електроліту таким чином, щоб досягти зменшення швидкості ЕОП.

ЕОП в перерізі сильно відрізняється від профілю фази, яка вимушено рухається під дією тиску. Профіль ЕОП допомагає мінімувати розширення зон в капілярному електрофорезі, таким чином покращуючи ефективність розділення [10]. Ефективність в капілярному електрофорезі характеризується кількістю теоретичних тарілок і складає 100-200 тисяч.

Для аналізу ФКК нами використано системи капілярного електрофорезу фірми Agilent Technologies США. Компоненти проби гідродинамічним способом вводяться у вигляді окремої зони на вході в капіляр (анод при позитивній полярності), рухаються у буферному розчині під дією прикладеної напруги до катоду, розділяючись в електричному полі за рахунок різної електрофоретичної рухливості, детектуються у вигляді дискретних зон і виводяться з капіляру. Детектування проведено за допомогою діодно-матричного детектора з низьким рівнем шуму і можливістю реєструвати весь спектр поглинання досліджуваних речовин.

Розділення гербіцидів класу ФКК проведено при позитивній полярності в нейтральних і лужних середовищах, де вони існують у вигляді органічних іонів, на не модифікованому капілярі довжиною 72 см і внутрішнім діаметром 50 мкм. Оптимальними умовами для цього класу сполук виявився 10 мМ боратний буфер з рН 9,2 при робочій напрузі 25 кВ. Тривалість аналізу разом з підготовкою капіляру складає 30 хвилин, але можливо скоротити аналіз до 20 хвилин. Пробу вводили гідродинамічним способом. Встановивши тиск введення $P_v = 50$ мбар, змінювали тривалість введення в інтервалі від 5 до 15 с. Задовільному розділенню піків відповідає 10 с., а при подальшому збільшенні тривалості введення проби спостерігається явище об'ємного перевантаження системи, розширення зон індивідуальних компонентів і пов'язані з цим труднощі розділення сусідніх піків.

Подальша раціоналізація таких параметрів як величин робочої напруги, температури, умов введення проби та геометричної характеристики капіляру, дозволила нам в цілому вирішити задачу розділення компонентів суміші, що аналізується (рис. 1).

При проведенні капілярного зонального електрофорезу використовували не модифіковані кварцові капіляри з внутрішнім діаметром 50-100 мкм і загальною довжиною 30-80 см. В залежності від того, де знаходиться область детектування від краю капіляра, змінюється таке поняття як ефективна довжина капіляру (як правило менше на 8-10 см від загальної довжини), яка має прямий вплив на електрофоретичну рухливість іонів, так як тільки в межах цієї довжини здійснюють рух іонів до моменту детектування.

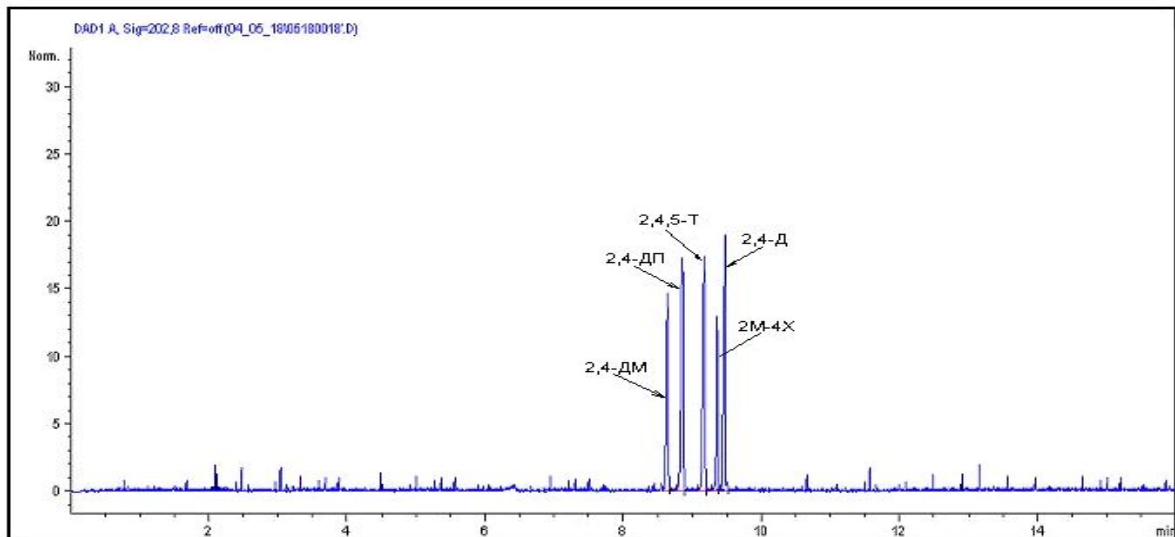


Рисунок 1 - Електрофереграма проби з насіння соняшнику з внесенням ФКК

На рис. 2 показана залежність ефективності розділення від прикладеної напруги на прикладі модельної суміші гербіцидів ФКК. Ця залежність добре узгоджується з теоретичними засадами методу.

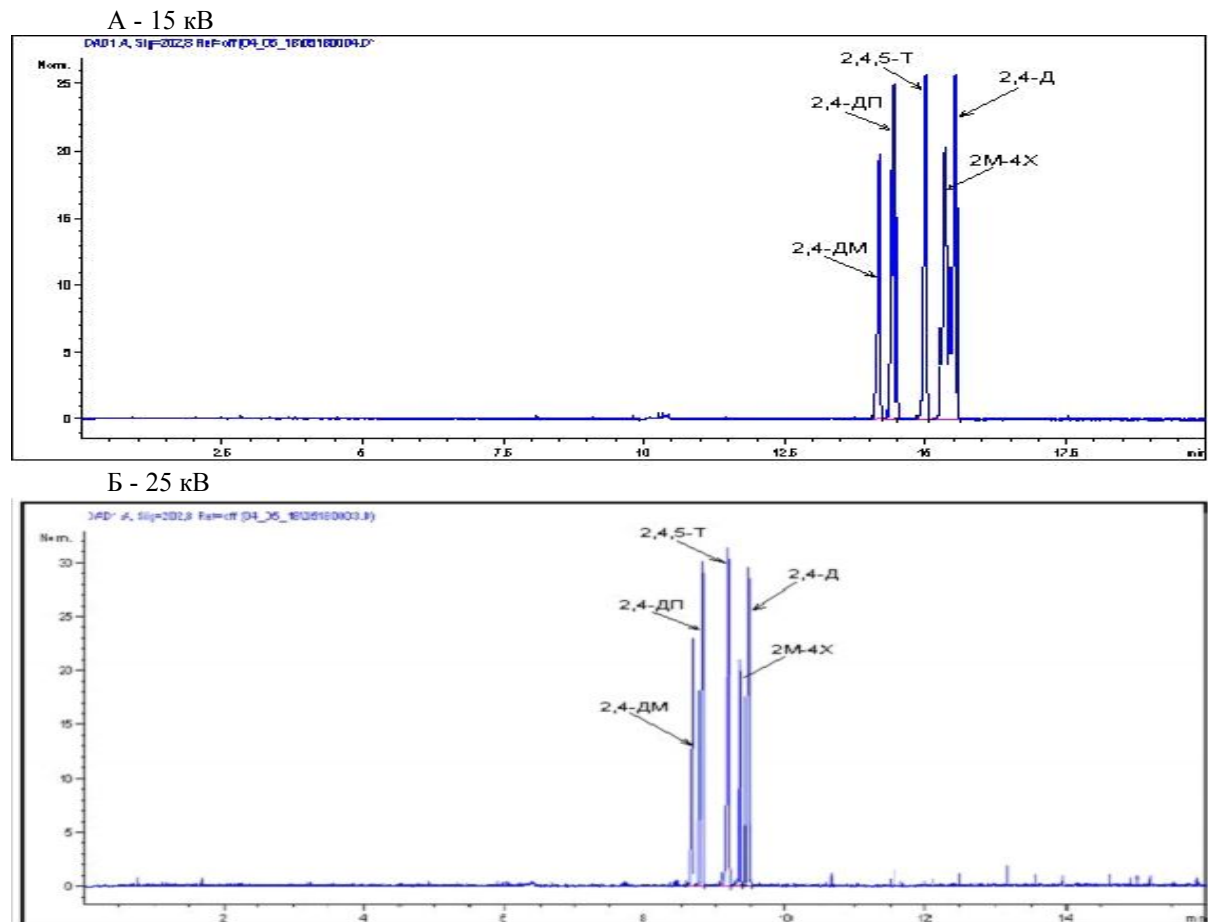
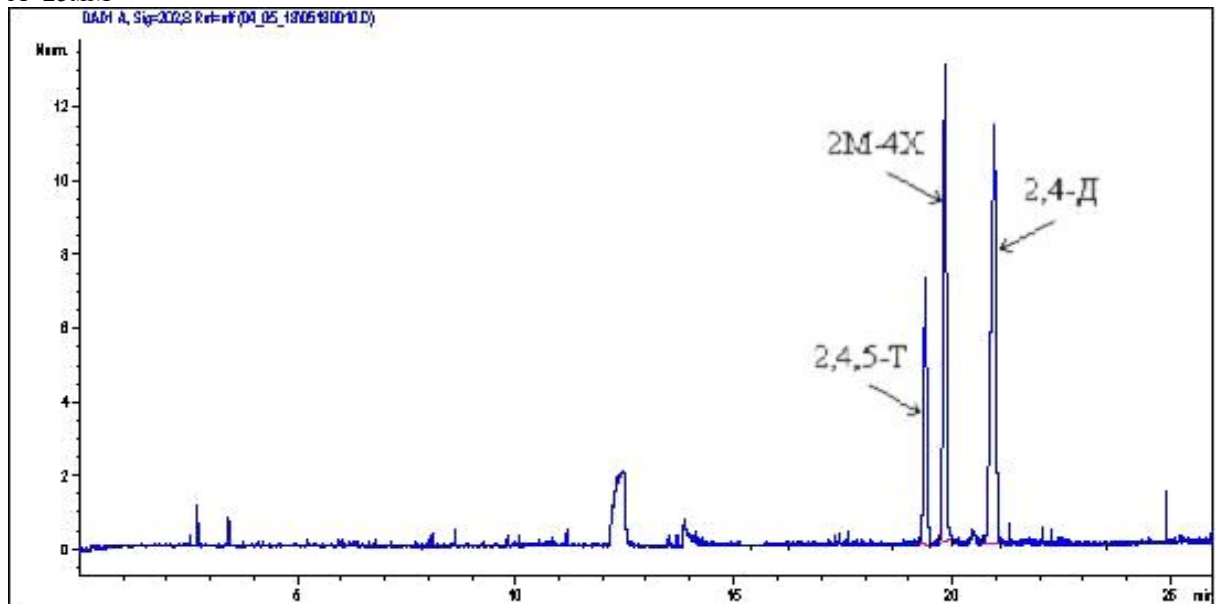


Рисунок 2 - Залежність ефективності розділення похідних ФКК від величини прикладеної напруги А - 15 кВ, Б – 25 кВ

Збільшення концентрації приводить до зменшення швидкості ЕОП, а відповідно і швидкості міграції і розширенню сигналів. На модельних сумішах ФКК змінювали рН та концентрацію ведучого електроліту. При переході від боратного буферу до ацетатного буферу та збільшенні концентрації ведучого електроліту від 10 до 50мМ спостерігали зниження швидкості електроосмотичного потоку, що призвело до зменшення електрокінетичного потенціалу.

Подальша оптимізація таких параметрів, як величина робочої напруги, температури, умов введення проби та геометричні характеристики капіляру, дозволили нам в цілому вирішити завдання розділення компонентів (рис.3) і визначати їхній вміст в діапазоні 2.0 – 200 мкг/кг.

А- 25ММ



Б -10ММ

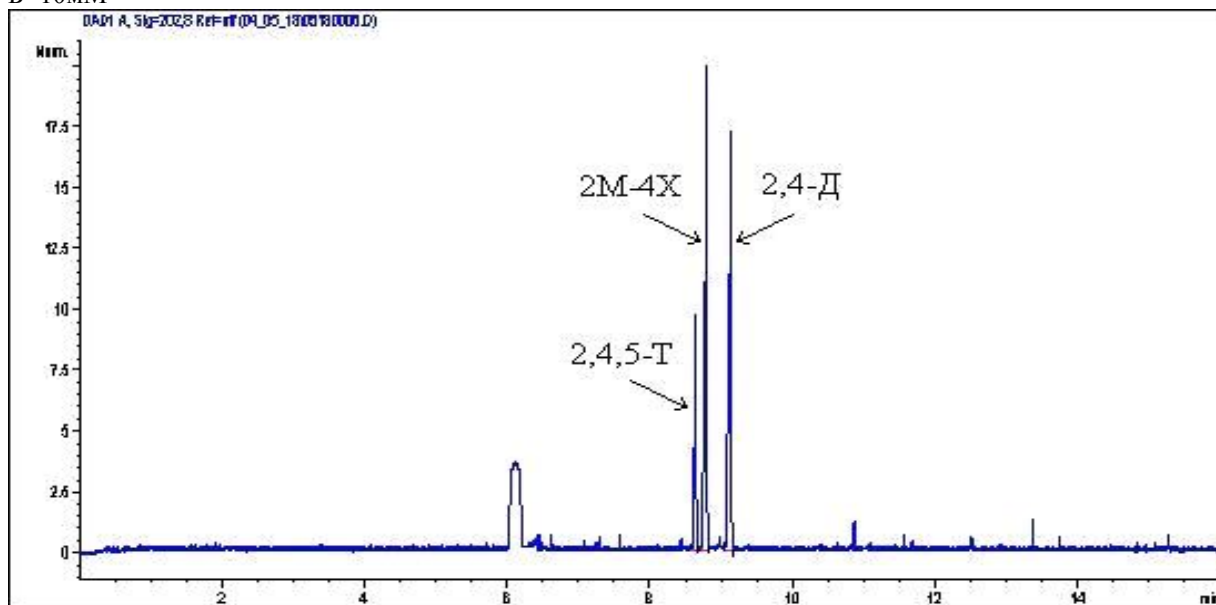


Рисунок 3 - Залежність ефективності розділення похідних ФКК від концентрації буферу

Висновки :

1. Встановлені закономірності електрофоретичного розділення суміші гербіцидів класу хлорфеноксикарбонових кислот.
2. Виявлені раціональні умови розділення та розроблена методика кількісного визначення гербіцидів класу хлорфеноксикарбонових кислот у насінні соняшнику методом капілярного зонального електрофорезу.
3. Встановлено, що капілярний зональний електрофорез, як метод міжфазного розділення, має суттєві переваги над іншими аналітичними методами у ефективності розділення, швидкості аналізу, незначній кількості реактивів і може бути конкурентоспроможним щодо методів газової і рідинної хроматографії при визначенні певних класів гербіцидів, а також інших показників безпеки. Метод характеризується простою пробопідготовкою, високою специфічністю, чутливістю і точністю.

Перспективи подальших розвідувань у даному напрямку. Використання методу капілярного зонального електрофорезу при ідентифікації і визначенні нанододішок і показників безпеки в харчових і спеціальних продуктах з регульованими функціонально - технологічними властивостями.

Список літератури

1. *Осейко М.І.* Технологія рослинних олій. Підручник нового покоління. Київ.: ВВ «Варта», 2006. – 280 с.
2. Сучасний підхід до визначення пестицидів у харчових продуктах. // *І.В.Левчук, В.А.Кіщенко, В.К.Семенович, М.І.Осейко* // Тези доповіді на міжнародній конференції “Хроматографічні методи аналізу органічних сполук”. Київ: 4-7 вересня 2007 р. – С. 15 – 16.
3. *Осейко М.І., Кіщенко В.А., Левчук І.В.* Інноваційні технології та безпеність олій //Харчова і перер. пром - сть, № 11, 2007. - С. 17 - 20.
4. *Осейко М.І.* Час розмов про підтягування до євростандартів минув / МП, № 2, 2008, С. 15-16.
5. *Осейко М.І, Кіщенко В.А., Левчук І.В.* Інноваційні технології і безпеність олієжирових продуктів /Харч. і перер. пром-ть, 2008, № 3, С. 22 – 24.
6. *Антонович Є.А., Седокур Л.К.* Качество продуктов питания в условиях химизации сельского хозяйства. – 1990 .– С. 38-44.
7. *Клисенко М.А., Александрова Л.Г., Демченко В.Ф., Макачук Т.Л.* Аналітична хімія залишкових кількостей пестицидів.– Киев: .-1999. –С. 18.
8. *Lukacs K.D., Jorgenson J. W.* «Capillary zone electrophoresis: Effect of physical parameters on separation efficiency and quantitation» J. High Res. Chromatogr. 1985, 8, 407-411.
9. *Kartsova L. Komarova N.* Capillary electrophoresis in analysis of chlorphenoxy acid herbicides and triazines in water./Abstracts first Baltic symposium on environmental Chemistry/ Tartu/ Estonia/ September 26-29. 2001.- P.112-113.
10. *Комарова Я.С., Карцова Н.В.* Оптимизация условий разделения гербицидов класса хлорфеноксикарбоновых кислот в природных и питьевых водах методом капиллярного электрофореза. Ж. Аналит. Химия. 2002, Т.6.- №1.- С.13-18.