

Porovnanie stanovenia chloridazónu v repnom cukre chronometrickou metódou a vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou

JOZEF TEKEĽ — MIROSLAV ŠPAŇÁR — JANA KOVAČIČOVÁ — MILAN KOVÁČ

Súhrn. V práci sa porovnávajú dve nezávislé metódy na stanovenie rezíduí chloridazónu — chronometrická metóda založená na technike inhibície Hillovej reakcie a metóda vysokotlakovej kvapalinovej chromatografie. Rezíduá chloridazónu sa stanovili vo fortifikovaných vzorkách repného cukru. Hladina fortifikácie bola 0,1 mg.kg⁻¹, resp. 0,5 mg.kg⁻¹. Štatisticky sme vyhodnotili 10 paralelných stanovení chloridazónu na oboch hladinách pre každú metódu. Priemerná výťažnosť chronometrickej metódy bola 89,2 % pre hladinu 0,1 mg.kg⁻¹, resp. 80,1 % pre hladinu 0,5 mg.kg⁻¹. Priemerná výťažnosť metódy vysokotlakovej kvapalinovej chromatografie bola 88,5 %, resp. 90,9 %. Pre zvolené hladiny fortifikácie sme overili pre každú metódu priebeh analytickej krivky. Medza stanovenia chloridazónu chronometrickou metódou je 0,01 mg.kg⁻¹, pre vysokotlakovú kvapalinovú chromatografiu 0,05 mg.kg⁻¹. Na hladine 0,1 mg.kg⁻¹ nebol zistený štatisticky významný rozdiel medzi porovnávanými metódami. Na hladine 0,5 mg.kg⁻¹ poskytuje chronometrická metóda nižšie výsledky.

Na ochranu porastov cukrovej repy sa v ČSSR všeobecne používa herbicídny prípravok Burex, ktorého účinnou zložkou je chloridazón.

Kuhlmann [1] použil na stanovenie rezíduí chloridazónu a jeho metabolitov v cukrovej repe metódu kapilárnej plynovej chromatografie. Sledovaním rezíduí chlórovaných pesticídov v cukrovarníckych produktoch sa zaoberali Reinefeld a spol. [2]. Maniara a Pietr [3] sa zaoberali stanovením lenacilu a chloridazónu v pôde.

Chronometrickú metódu na stanovenie herbicídov zo skupiny inhibítorov Hillovej reakcie vypracovali Kováč a spol. [4]. Metóda bola rozpracovaná na stanovenie herbicídov močovínového a triazínového typu v zemiakoch a mrkve [5], vo vodách [6] a aj na sledovanie obsahu fenmedifamu, desmedifamu, lenacilu a chloridazónu v cukrovej repe a produktoch jej technologického sprá-

Ing. Jozef Tekeľ, RNDr. Miroslav Špaňár, Ing. Jana Kovačičová, CSc., Ing. Milan Kováč, CSc., Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 829 09 Bratislava

covania [7]. Princíp metódy a postup analýzy podrobne opisujú práce [5—7]. Vo všetkých uvedených prípadoch sa chronometrickou metódou prednostne analyzovali herbicídy, ktoré sú silnými inhibítormi Hillovej reakcie. Porovnanie stanovenia prometrynu v zemiakoch a mrkve chronometrickou metódou a metódou vysokotlakovej kvapalinovej chromatografie [8] s dobrou zhodou výsledkov na fortifikovaných vzorkách rastlinného materiálu potvrdilo perspektívu chronometrickej metódy stanovenia reziduí herbicídov, inhibítorov Hillovej reakcie, v rôznych substrátoch. V tejto práci, ktorá nadväzuje na prácu [7], sa zameriavame na porovnanie chronometrickej metódy s metódou HPLC pri stanovení slabého inhibítora Hillovej reakcie — chloridazónu.

Experimentálna časť

Materiál a pomôcky

Všetky chemikálie a rozpúšťadlá boli analytickej čistoty, pred použitím čerstvo predestilované. Použili sme kvapalinový chromatograf Varian 8500 s detektorom Vari-Chrom a integrátorom Hewlett—Packard 3380 A. Roztoky chloridazónu (referenčná látka) boli v chloroforme ($1\text{--}5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$).

Príprava homogenátu chloroplastov, detekčného činidla a charakteristika chronometrickej metódy sú opísané v prácach [5—7].

Postup

100 g cukru sme rozpustili v 400 cm^3 10 % vodného roztoku chloridu draselného. Roztok sme extrahovali $2 \times 100\text{ cm}^3$ chloroformu na mechanickej trepačke 10 min. Spojené organické podiely sme prefiltrovali cez vrstvu 2 g bezvodého síranu sodného a chloroform sme odparili na vákovej rotačnej odparke pri teplote $40\text{ }^\circ\text{C}$.

Chronometrické stanovenie

Odparok sme rozpustili v 2 cm^3 chloroformu. Na chromatografickú dosku Silufol^R sme naniesli 10 mm^3 chloroformového roztoku vzorky a po 10 mm^3 chloroformových roztokov štandardu chloridazónu ($1\text{--}5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$). Na vyví-

janie chromatografických dosiek sme použili vyvíjaciú sústavu benzén—etylacetát—acetón (1 : 3 : 1). Obsah chloridazónu vo vzorke sme vyhodnotili pomocou analytickej krivky.

Vysokotlaková kvapalinová chromatografia

a) Kolóna Separon six C 18, 300×3 mm

mobilná fáza CH_3OH — 0,05 M NaH_2PO_4 (45 : 55)

prietok mobilnej fázy $30 \text{ cm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$

detektor UV 280 nm

b) Kolóna MicroPack CH-10, 300×4 mm

mobilná fáza CH_3OH — 0,05 M NaH_2PO_4 (45 : 55)

prietok mobilnej fázy $70 \text{ cm}^3 \cdot \text{h}^{-1}$

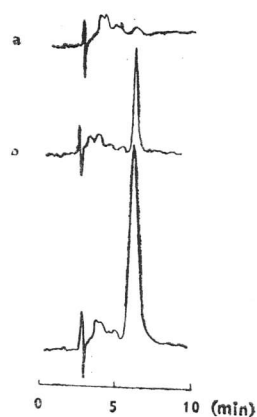
detektor UV 280 nm

Pracovné podmienky a) a b) sa líšia iba veľkosťou prietoku mobilnej fázy a priemerom kolóny. Pri fortifikácii $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sme použili pracovné podmienky a), pri fortifikácii $0,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ podmienky b). Odparok chloroformového extraktu sme rozpustili v 1 cm^3 mobilnej fázy. Na kolónu sme dávkovali objem 100 mm^3 . Kvantitatívne vyhodnotenie sme urobili pomocou integrátora HP 3380 A metódou analytickej krivky.

Výsledky a diskusia

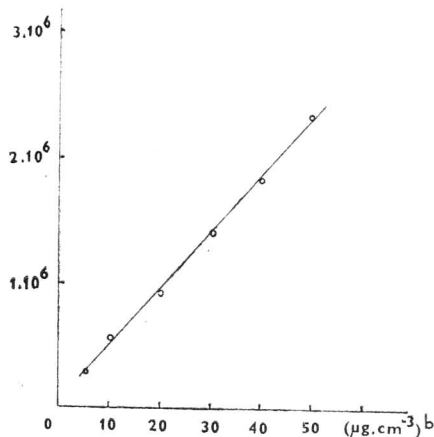
Získané hodnoty výťažnosti stanovenia chloridazónu vo fortifikovaných vzorkách kryštálového repného cukru uvádza tabuľka 1 pre obidve metódy. Urobili sme súbor 10 stanovení, ktorý sme štatisticky vyhodnotili výpočtom aritmetického priemeru \bar{x} , intervalu spoľahlivosti L_1 , pre hladinu významnosti 95 %. Na vylúčenie odľahlých výsledkov sme použili Grubbsov test. Na testovanie zhodnosti výsledkov, ktoré sme získali dvoma rôznymi analytickými metódami, sme použili Studentov t -test [9].

Na obrázku 1 sú typické chromatogramy pri stanovení chloridazónu v repnom cukre metódou HPLC. Z porovnania záznamov je zrejmé, že v elučnej oblasti chloridazónu je interferencia pozadia minimálna. Oblasť linearít stanovenia pre HPLC vyjadruje obrázok 2. Analytická krivka je lineárna v oblasti koncentrácií $5\text{--}60 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$. Oblasť linearít stanovenia chronometrickou metódou znázorňuje obrázok 3. Vidieť, že v tomto prípade oblasť linearít je podstatne užšia a krivka pri vyšších koncentráciách stráca linearitu.

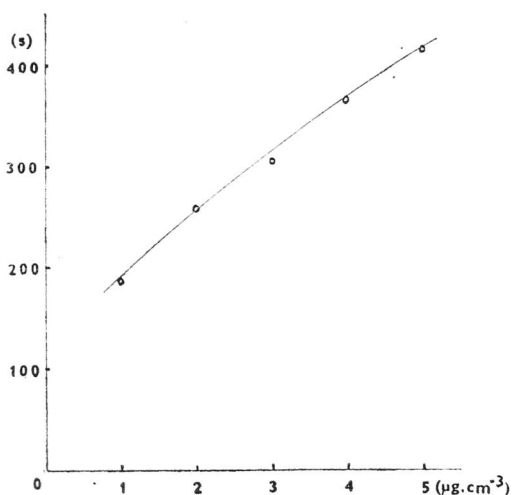


Obr. 1. Vysokotlaková kvapalinová chromatografia. a — chromatogram vzorky cukru bez fortifikácie, b — chromatogram chloridazónu v cukre na hladine 0,1 mg.kg⁻¹, c — chromatogram chloridazónu v cukre na hladine 0,5 mg.kg⁻¹.

Fig. 1. High-pressure liquid chromatography. a — chromatogram of a sugar sample without fortification, b — chromatogram of chloridazone in sugar on the level 0.1 mg kg⁻¹, c — chromatogram of chloridazone in sugar on the level 0.5 mg kg⁻¹.



Obr. 2. Analytická krivka stanovenia chloridazónu v cukre metódou vysokotlakovej kvapalinovej chromatografie. Fig. 2. Analytical curve of chloridazone determined in sugar by the method of high-pressure liquid chromatography.



Obr. 3. Analytická krivka stanovenia chloridazónu v cukre chronometrickou metódou.

Fig. 3. Analytical curve of chloridazone determined in sugar by the chronometric method.

Tabuľka 1. Stanovenie chloridazónu vo fortifikovanej vzorke repného cukru chronometrickou metódou a vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou (HPLC)
 Table 1. Determination of chloridazone in a fortified sample of beet sugar using the chronometric method and the high-pressure liquid chromatography (HPLC)

Vzorka ¹	Výťažnosť ² (%)			
	Chronometrická metóda ³		HPLC ⁴	
	0,1 a	0,5 b	0,1 a	0,5 b
1	84,0	79,0	67,8 ⁺	89,0
2	80,0	77,0	101,0 ⁺	86,6
3	90,0	82,0	99,3	93,1
4	96,0	72,0	84,4	87,5
5	90,0	85,0	85,6	87,3
6	96,0	70,0	96,6	92,7
7	92,0	80,0	93,5	94,9
8	88,0	90,0	80,0	93,2
9	90,0	85,0	86,8	96,3
10	86,0	81,0	81,4	88,0
\bar{x}	89,2	80,1	88,5	90,0
$L_{1,2}$	89,2 ± 3,4	80,1 ± 4,1	88,5 ± 3,8	90,0 ± 2,4

⁺Odfahľé hodnoty. a — hladina fortifikácie 0,1 mg/kg⁻¹, b — hladina fortifikácie 0,5 mg/kg⁻¹.⁵

¹Sample, ²Yieldability, ³Chronometric method, ⁴High-pressure liquid chromatography, ⁵Extrinsic values. a — fortification value 0,1 mg/kg⁻¹, b — fortification value 0,5 mg/kg⁻¹.

Medza stanovenia chloridazónu v cukre chronometrickou metódou je 0,01 mg/kg⁻¹, pre HPLC 0,05 mg/kg⁻¹. Použitím Studentovho *t*-testu na zistenie zhodnosti výsledkov pre dve analytické metódy sme zistili, že na hladine 0,1 mg/kg⁻¹ a $\alpha = 0,05$ rozdiel aritmetických priemerov nie je štatisticky významný. Na hladine 0,5 mg/kg⁻¹ sa zistil štatisticky významný rozdiel aritmetických priemerov. Chronometrická metóda poskytuje na hladine 0,5 mg/kg⁻¹ signifikantne nižšie výsledky. Vysvetľujeme to nelinearitou analytickej krivky pri vyšších koncentráciách. Chronometrická metóda je výhodnejšia pre nižšie obsahy chloridazónu, kde poskytuje správne výsledky. Metóda HPLC poskytuje dobré výsledky v širšom intervale.

V praxi nie je reálne predpokladať v cukre prítomnosť reziduí chloridazónu na hladine 0,5 mg/kg⁻¹. Napríklad v NSR je maximálny limit reziduí chloridazónu v cukrovej repe 0,3 mg/kg⁻¹ [10]. Chronometrická metóda je vhodná a možno ju odporúčať na praktickú kontrolu reziduí. Na prípadnú analýzu vzoriek s vyšším obsahom reziduí chloridazónu je vhodnejšia metóda HPLC.

Literatúra

1. KUHLMANN, F.: Z. Lebensmitt.-Unters. Forsch., 173, 1981, s. 35.
2. REINEFELD, E. — BLIESENER, K. M. — URBAN, G.: Zucker, 105, 1980, s. 900.
3. MANIARA, G. — PIETR, S.: J. Chromatogr., 189, 1980, s. 88.
4. KOVÁČ, J. — KURUCOVÁ, M. — HENSELOVÁ, M. — BÁTORA, V. — BENADA, J.: Čs. AO 223118.
5. KOVÁČ, J. — KURUCOVÁ, M. — BÁTORA, V. — TEKEL, J. — STRNISKOVÁ, V.: J. Chromatogr., 280, 1983, s. 176.
6. KOVÁČ, J. — KURUCOVÁ, M. — TEKEL, J.: In: Nové analytické metódy v chémii vody. Zborník z konferencie Hydrochémia '83. Bratislava 1983, s. 107.
7. TEKEL, J.: Bull. potrav. Výskumu, XXIII (III), 1984, č. 1, s. 53.
8. TEKEL, J. — ŠPANÁR, M. — KOVÁČ, J.: Bull. PV, 22 (2), 1983, č. 1, s. 15.
9. ECKSCHLAGER, K. — HORSÁK, I. — KODEJŠ, Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod, Praha, 1980.
10. Höchstmengenverordnung: Pflanzenschutz, pflanzliche Lebensmittel von 30. Nov. 1966, zuletzt geändert am 4. Febr. 1976, BGBI, I. 264 s.

Сравнение определения хлоридазона в свекольном сахаре методом хронометрии и методом жидкостной хроматографии под высоким давлением

Резюме

В работе сравниваются два независимых метода определения остатков хлоридазона: метод хронометрии, основанный на ингибировании реакции Хилла, и метод жидкостной хроматографии под высоким давлением. Остаток хлоридазона устанавливался в обогащенных образцах свекольного сахара. Уровень обогащения составлял 0,1 мг.кг⁻¹, или же 0,5 мг.кг⁻¹. Была проведена статистическая обработка 10 параллельных определений хлоридазона на обоих уровнях для каждого метода. Средний выход по методу хронометрии составлял 89,2 % для уровня 0,1 мг.кг⁻¹, и соответственно — 80,1 % для уровня 0,5 мг.кг⁻¹. Средний выход по методу жидкостной хроматографии под высоким давлением составлял 88,5 % и соответственно — 90,9 %. Для выбранных уровней обогащения мы проверили для каждого метода ход аналитической кривой. Предел определения хлоридазона по методу хронометрии составляет 0,01 мг.кг⁻¹, по методу жидкостной хроматографии под высоким давлением — 0,05 мг.кг⁻¹. На уровне 0,1 мг.кг⁻¹ не было обнаружено статистически значимой разницы между сравниваемыми методами. На уровне 0,5 мг.кг⁻¹ более низкие результаты дает метод хронометрии.

Comparison of the chronometric method and the high-pressure liquid chromatographic method applied to determine the residues of chloridazone in beet sugar

Summary

The subject of this study has been to compare two separate methods applied to determine the residues of chloridazone, namely the chronometric method based on the technique of inhibition the Hill reaction and the method of high-pressure liquid chromatography. Residues of chloridazone were determined in fortified samples of sugar beet. The

fortification level was 0.1 mg kg^{-1} , or 0.5 mg kg^{-1} . Ten parallel determinations of chloridazone were evaluated statistically on both levels for each method, respectively. Average recovery of the chronometric method was 89.2% for the level 0.1 mg kg^{-1} , and 80.1% for the level 0.5 mg kg^{-1} . Average recovery of the high-pressure liquid chromatography method was 88.5%, eventually 90.9%. As to the chosen fortification levels, the course of analytical curve was verified for each method, respectively. With the chronometric method, respectively. With the chronometric method the limit of determining chloridazone was 0.01 mg kg^{-1} , in high-pressure liquid chromatography it was 0.05 mg kg^{-1} . As to the level 0.1 mg kg^{-1} no statistically significant difference was found between the two compared methods. As to the level 0.5 mg kg^{-1} the chronometric method was found to provide lower results.