

Analýza reziduí prometrynu v rastlinných vzorkách spojením preparatívnej izotachofórey a plynovej chromatografie

RÓBERT KUBINEC - JOZEF MARÁK - JÚLIA GRAUSOVÁ -
MARIANA DANKOVÁ - DUŠAN KANIANSKY - MIROSLAV ŠTEKLÁČ

SÚHRN. Článok sa zaoberá stanovením reziduí prometrynu v liečivých rastlinách po ich extrakcii kvapalinovou a superkritickou fluidnou extrakciou. Vypracoval sa postup čistenia extraktu pomocou kolónovej chromatografie a preparatívnej izotachofórey s následnou plynovochromatografickou separáciou so selektívnou detekciou prvkov pomocou AED.

Medzi vážne kontaminanty životného prostredia patria aj herbicídy, ktorých reziduí sa v súčasnej dobe nachádzajú v hydrosfére, pedosfére, atmosfére aj biosfére v dôsledku cielenej činnosti ľudí. Bez ich aplikácie poľnohospodárska výroba nie je schopná pokryť požiadavky na produkciu potravín jednak čo do sortimentu, jednak čo do kvality [1]. Veľký rozsah použitia herbicídov, ich prienik do rôznych zložiek životného prostredia a následne i do potravinového reťazca, obrátili záujem hygienikov a analytikov na ich pravidelné sledovanie. Reziduí herbicídov môžu preniknúť až do potravinového reťazca a takto sa stávajú predmetom hygienicko-toxikologickej kontroly [2].

Aplikácia registrovaného a povoleného herbicídu na liečivú rastlinu môže mať negatívne vplyvy aj na zloženie extraktov z týchto rastlín, používaných ďalej vo farmácii. Obsah reziduí pesticídov v sledovaných rastlinách musí klesnúť po uplynutí stanovenej ochranné doby pod hodnotu maximálneho reziduálneho limitu, ktorý je pre čerstvý rastlinný materiál všeobecne určený na hodnotu 0,1 mg.kg⁻¹ [3].

Identifikácia a kvantitatívne stanovenie reziduí herbicídov sú veľmi náročné úlohy, pretože vo väčšine prípadov ide o analýzu látok v rozmedzí

RNDr. Róbert KUBINEC, CSc., Chemický ústav Prírodovedeckej fakulty UK, Mlynská dolina CH2, 842 15 Bratislava.

RNDr. Jozef MARÁK, CSc., Doc. RNDr. Dušan KANIANSKY, CSc., RNDr. Miroslav ŠTEKLÁČ, CSc., Júlia GRAUSOVÁ, Mariana DANKOVÁ, Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta UK, Mlynská Dolina, 842 15 Bratislava.

koncentrácií 10^{-5} až 10^{-8} mg.kg⁻¹. Z uvedeného dôvodu je nutné pracovať s využitím analytických prístrojov so špičkovými parametrami, pri vysokých citlivostiach a s dostatočnou rozlišovacou schopnosťou pre jednotlivé komponenty. Vzhľadom na rastúce požiadavky stále pokračuje rozvoj citlivejších postupov, ktoré by umožnili stanoviť nanogramové resp. sub-nanogramové množstvá reziduí. Pre tieto účely sa používajú spektrofotometrické, polarografické, mikrobiologické a chromatografické metódy [1].

Z chromatografických systémov sa pri analýze triazínov okrem plynovej chromatografie používa HPLC v spojení s detektorom diódového poľa (diode-array detektorom - DAD), kvapalinová chromatografia v spojení s hmotnostným detektorom (LC-MS), vysokoúčinná tenkovrstvová chromatografia (HPTLC), iónovymenná chromatografia a superkritická fluidná chromatografia (SFC) [4].

Materiál a metódy

Kvapalinová extrakcia

Na kvapalinovú extrakciu sa použilo 0,25 g rastlinnej vzorky. K nej sa pridalo 50 ml metanolu a trepalo na mechanickej trepačke 2 h. Po prefiltrovaní sa vzorka ešte dvakrát pretrepala s 10 ml metanolu a opäť prefiltrovala. Získané spojené filtráty sa zahustili na rotačnej vákuovej odparke na objem 1 ml.

Superkritická fluidná extrakcia

Na SFE sa použil komerčný extraktor fy Hewlett Packard HP 7680A, počítač VECTRA QS/165.

Na extrakciu modelových vzoriek sa použili vzorky s hmotnosťou 0,25 g. Extrakcia bola vykonaná za nasledovných podmienok:

A: Vlastnosti extrakčného fluida	
extrakčné fluidum:	CO ₂
hustota:	0,95 g.ml ⁻¹
prietok:	2 ml.min ⁻¹
modifikátor:	10 % (objemových) metanolu
B: Extrakčná cela	
teplota:	40 °C
rovnovážny čas:	25 min

extrakčný čas:	10 min
objem cely:	7 ml
C: Analytický trap	
restriktor:	45 °C
trap:	40 °C
sorbent:	ODS
prázdny kompenzačný objem:	0,9 ml

Kolónová chromatografia

V kolónovej chromatografii sa použila ako náplň do kolón s priemerom 1 cm 3 g silikagélu, resp. 3 g Florisilu.

Aktivácia silikagélu: Silikagél zrnitosti 70 - 230 mesh sa žíhal pri teplote 600 °C po dobu 5 hodín v muflovej peci.

Aktivácia Florisilu: Florisil zrnitosti 100 - 200 mesh sa žíhal pri teplote 400 °C po dobu 5 hodín v muflovej peci.

Zahustené extrakty z kvapalinovej extrakcie a metanolicke frakcie zo superkritickej fluidnej extrakcie boli kolónovou chromatografiou separované tak na silikagéli, ako aj na Florisile. Metanolicke frakcie získané zo SFE boli separované len na Florisile.

Pri gradientovej elúcii s použitím rozpúšťadiel (v poradí: 50 ml hexánu, 50 ml octanu etylnatého a 40 ml metanolu) sa získali tri frakcie, ktoré sa zahustili na rotačnej vákuovej odparke na objem 1 ml. Frakcie boli analyzované v plynovochromatografickom systéme GC-AED.

Preparatívna kapilárna izotachoforéza

Extrakty z kvapalinovej extrakcie a metanolicke frakcie zo superkritickej fluidnej extrakcie boli preparované i s pomocou pITP.

Na preparáciu vzoriek sa použil upravený izotachoforetický analyzátor ZKI-001(Villa-Labeco, Spišská Nová Ves). Separačná jednotka, vyrobená v laboratóriách Chemického ústavu Prírodovedeckej fakulty UK v usporiadaní column-coupling (spájania kolón), pozostávala z dávkovacieho kohúta s objemom 50 μ l. Na frakcionáciu bol použitý frakcionačný kohút s objemom vnútornej slučky 7 μ l.

Podmienky pITP separácie [5]:

LE:	$1,5 \cdot 10^{-2}$ mol.l ⁻¹ NaAc + HAc, pH = 5,6, 25 % MeOH
TE:	$5 \cdot 10^{-2}$ mol.l ⁻¹ HAc, 30 % MeOH

SPACERY: $4 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ glycylglycín
 $4 \cdot 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ karnitín.HCl
 $I_1 = 600 \mu\text{A}$; $I_2 = 200 \mu\text{A}$

K 100 μl extraktu sa pridala deionizovaná voda a spacery (látky vydeľujúce zónu s analyzovanou zložkou) na výsledný objem 300 μl . Takto upravený roztok bol nadávkovaný v objeme 50 μl do dávkovacieho kohúta a frakcia s prometrynom sa z mikropreparatívneho kohúta vypláchla s MeOH na výsledný objem 50 μl . Takto pripravená vzorka bola ďalej podrobená plynovochromatografickej analýze s použitím GC-AED.

Plynovochromatografická analýza systémom GC-AED

Na plynovochromatografickú analýzu sa použil plynový chromatograf HP 5890 Series II (Hewlett Packard, Germany) s atómovým emisným detektorom HP 5921A (Hewlett Packard, USA) a s automatickým injektorom HP 7673A (Hewlett Packard, USA).

GC parametre pre analýzu prometrynu:

Injektor:	Split/Splitless
Splitless:	90 s
Teplota injektora:	300 °C
Kolóna:	2,5 m x 0,2 mm x 0,50 μm , HP-5
Teplotný program:	od 60 °C (0 min izotermicky), potom s gradientom teploty 20 °C.min ⁻¹ do 300 °C (5 min izotermicky)
Dávkovaný objem:	1 μl , 3 μl

AED parametre pre analýzu prometrynu:

Analyzované prvky:

Prvok	Vlnová dĺžka [nm]	Reagenčný plyn
C	191	O ₂ , H ₂
S	183	O ₂ , H ₂

Výplach eluátu:	2,5 min
Teplota transferline:	330 °C
Teplota cely:	330 °C
Teplota chladiacej vody:	63 °C

Výsledky a diskusia

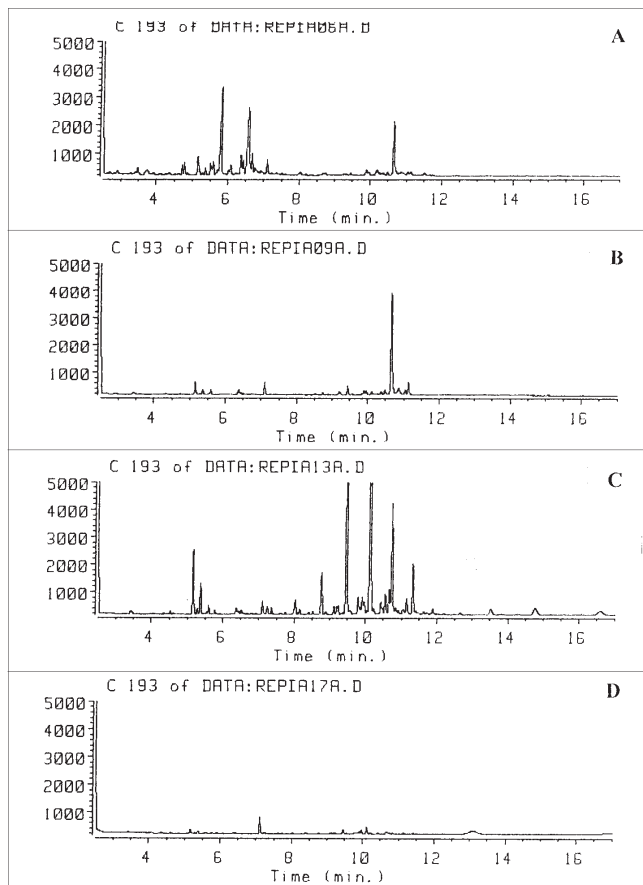
Extrakcia kvapalinou (LSE) patrí dnes medzi najrozšírenejšie extrakčné postupy. Vzhľadom na dobrú rozpustnosť prometrynu sa ako extrahovadlo na jeho extrakciu z rastlinných matric vybral metanol. Na extrakciu sa použilo 0,25 g repíka lekárskeho nekontaminovaného a kontaminovaného na obsah 14 a 1,4 mg.kg⁻¹ prometrynu. Extrakcia bola vykonaná podľa uvedeného postupu a extrakty boli analyzované plynovochromatograficky s AED detekciou na uhlíkovom a sírovom kanáli. Rovnako ako extrakty z LSE extrakcie boli analyzované i extrakty repíka lekárskeho získané superkritickou fluidnou extrakciou (SFE), kde bol predpoklad nižšieho obsahu koeluentov.

Extrakcia vzoriek pomocou SFE sa študovala pre rastlinnú matricu na vzorkách repíka lekárskeho s hmotnosťou 0,25 g s prídavkom modifikátora. Modifikátor bol pridávaný do extrakčnej cely v obsahu 10 % objemových metanolu a hustote CO₂ 0,95 g.ml⁻¹. Po statickej extrakcii v extrakčnej cele boli vyextrahované látky dynamicky vymyté superkritickým CO₂ a zachytené na kolóne s ODS. Na elúciu vyextrahovaných látok sa použili 1 ml metanolu a 3 ml chloroformu a získané frakcie boli zachytené v objeme 1 ml. Uvedené frakcie sa analyzovali v systéme GC-AED.

Plynovochromatografické záznamy jednotlivých frakcií sú uvedené na obr. 1. Zo záznamov je zrejmé, že vyextrahované organické látky zo vzorky repíka lekárskeho pomocou SFE sa na kolóne s ODS distribuujú do prvých troch frakcií, pričom prometryn eluuje z ODS kolónky už v prvej metanolickej frakcii.

Z obr. 2. je zrejmé, že uvedeným postupom je možné detegovať prometryn na hladine kontaminácie 1,4 mg.kg⁻¹ v suchej matrici. Ďalšie zvyšovanie citlivosti pomocou zakoncentrovania vzorky alebo zväčšenia dávkovaného objemu sa ukazuje byť neschodným, nakoľko za týchto podmienok dochádza k predávkovaniu kolóny koeluentmi prometrynu a tým k zníženiu citlivosti. Problematickým sa stáva aj kvantitatívna analýza prometrynu v dôsledku interferencie signálu z uhlíkového kanála na sírový. Na zníženie detekčného limitu je preto potrebná ďalšia úprava pôvodného extraktu. Boli preto študované možnosti selektívnej úpravy primárnych extraktov s využitím kolónovej chromatografie na silikagéli a Florisile.

Z tabuľky 1. je zrejmé, že presnosť meraní na koncentračnej hladine 1,4 mg.kg⁻¹ sa pohybuje od 5,8 % do 19,1 %, pričom výťažnosť jednotlivých extrakcií je na úrovni od 47,1 % do 75,6 % s priemernou hodnotou výťažnosti 63,0 % a s RSD 20,1 %.

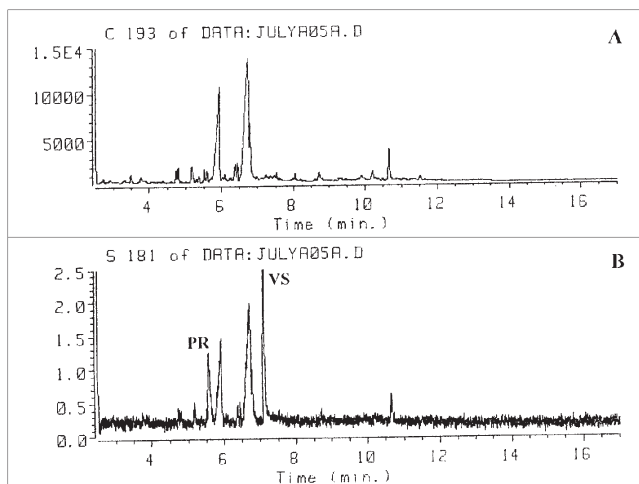


OBR. 1. Plynovochromatografický záznam extraktu repíka lekárskeho získaného zo SFE nameraný v systéme GC-AED na uhlíkovom kanáli.

FIG. 1. Gas chromatographic (GC-AED) analyses of SFE extract of non-contaminated *Agrimonia eupatoria* L. monitored on the carbon channel.

A - C-kanál prvej (metanolickej) frakcie, B - C-kanál druhej (chloroformovej) frakcie, C - C-kanál tretej (chloroformovej) frakcie, D - C-kanál štvrtej (chloroformovej) frakcie.
A - first fraction (methanol), B - second fraction (chloroform), C - third fraction (chloroform), D - fourth fraction (chloroform). For the details see text.

Hodnoty výťažnosti menšie ako 100 % poukazujú na jednak na nedostatočnú selektivitu vlastnej extrakcie a jednak na možné straty analytov v extrakčnom systéme. Tieto môžu vznikáť tak miniatúrnymi netesnosťami tlakového systému, ktoré nie je možné registrovať a následne korigovať, ako aj neselektívnou elúciou prometrynu zo záchytnej kolónky s ODS.



OBR. 2. Plynovochromatografický záznam SFE extraktu repíka lekárskeho získaného zo vzorky kontaminovanej prometrynom na hladinu $1,4 \text{ mg.kg}^{-1}$ nameraný v systéme GC-AED na uhlíkovom a sírovom kanáli.

FIG. 2. Gas chromatographic (GC-AED) analyses of SFE extract of *Agrimonia eupatoria* L. contaminated by prometryne at the 1.4 mg.kg^{-1} concentration level monitored on the carbon (A) and sulphur (B) channels, respectively.

A - C-kanál prvej metanolickej frakcie, B - S-kanál prvej metanolickej frakcie, VS - vnútorný štandard, PR - prometryn.

A - trace from the carbon channel from the first fraction (methanol); B - trace from the sulphur channel from the first fraction (methanol); VS - internal standard; PR - prometryne.

TABUĽKA 1. Výťažnosť prometrynu získaného SFE extrakciou pre hladinu kontaminácie $1,4 \text{ mg.kg}^{-1}$.

TABLE 1. Recovery [%] of SFE at the concentration level 1.4 mg.kg^{-1} of prometryne.

Vzorka ¹	\bar{A}	SD	RSD [%]	R [%]
1	51	2,9	5,8	75,6
2	42	4,1	9,8	62,9
3	45	8,5	19,1	66,5
4	32	2,9	9,2	47,1
1 - 4	42*	8,5*	20,1*	63,0*

\bar{A} - priemerná plocha z troch meraní, SD - smerodajná odchýlka, RSD - relatívna smerodajná odchýlka, R - výťažnosť, * - hodnoty získané zo všetkých meraní.

1 - sample, \bar{A} - mean value of the peak area of prometryne calculated from the 3 independent measurements, SD - standard deviation, RSD - relative standard deviation, R - recovery, * - values were calculated from all measurements.

Úprava extraktov s použitím kolónovej chromatografie

Extrakty získané z LSE a z SFE sa podrobili úprave s použitím kolónovej chromatografie v snahe zníženia detekčného limitu a množstva interferujúcich látok rušiacich analýzu prometrynu.

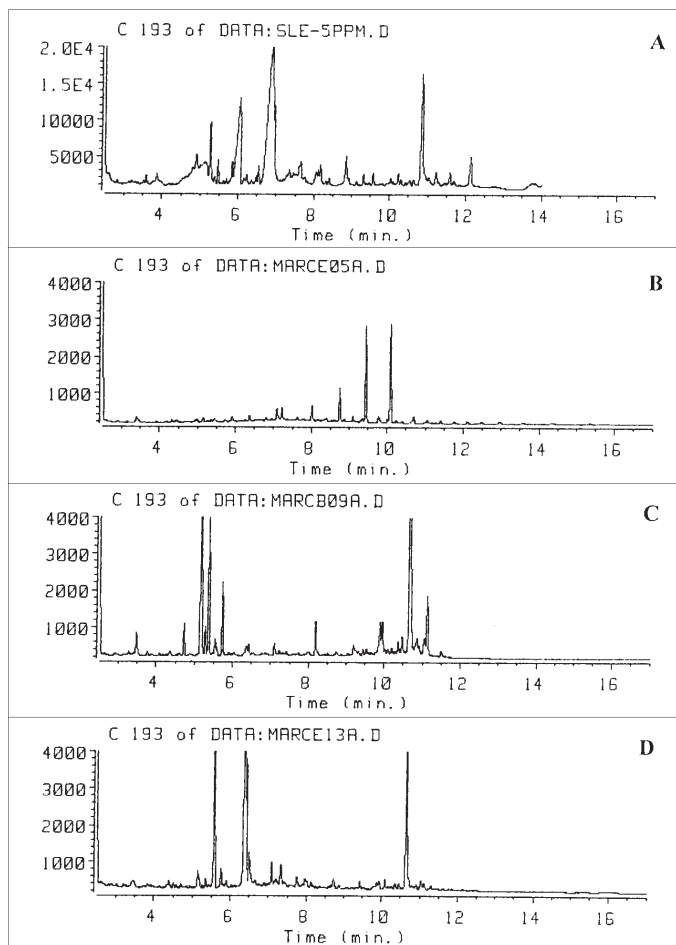
Na kolónovú chromatografiu sa použili extrakty získané z kvapalinovej extrakcie a metanolickej frakcie superkritickej fluidnej chromatografie.

Na obr. 3. sú znázornené plynovochromatografické záznamy LSE extraktu repíka lekárskeho kontaminovaného prometrynom na obsah 14 mg.kg^{-1} po separácii na kolóne s Florisilom.

Z obr. 3. je zrejmé, že balastné látky z pôvodného SLE extraktu sa distribuujú do všetkých troch frakcií, čím dochádza k zníženiu obsahu týchto koeluentov v každej z nich v porovnaní s pôvodným extraktom. Porovnaním chromatogramu pôvodného extraktu a chromatogramov jednotlivých frakcií možno pozorovať i ireverzibilnú sorpciu časti balastných látok, ktoré eluovali v pôvodnom LSE extrakte, pričom prometryn eluuje vo frakcii octanu etyl-natého v majoritnom obsahu a v metanolovej frakcii sa objavuje jeho menšia časť.

Okrem Florisilu bola možnosť prečistenia pôvodného SLE extraktu študovaná i na kolóne so silikagélom, kde prometryn po separácii na kolóne so silikagélom eluuje v metanolovej (poslednej) frakcii. Časť prometrynu eluuje pritom už vo frakcii octanu etyl-natého, pričom obsah nepresahuje 2 % z celkového obsahu prometrynu. Zo štúdií úpravy primárnych extraktov na Florisile a silikagéli vyplýva, že silikagél je pre selektívnu separáciu extraktov obsahujúcich prometryn menej vhodným sorbentom vzhľadom na jeho čiastočnú ireverzibilnú sorpciu, čo potvrdzujú aj údaje získané z literatúry. Preto sme v ďalšej práci na úpravu SFE extraktov používali iba Florisil.

Látky vyextrahované pomocou SFE a po následnom prečistení na kolóne s ODS nachádzajúce sa v metanolickej frakcii, sa po ďalšej separácii na kolóne s Florisilom rozdelili do troch frakcií, tým sa dosiahlo zníženie obsahu balastných látok v porovnaní s primárnym SFE extraktom. Po dvoj-rozmernej separácii na koncentračnej úrovni $1,4 \text{ mg.kg}^{-1}$ už nedochádza k interferencii koelujúcich látok na sírový kanál, to znamená, že je možné analyzovať prometryn na úrovni nižšej ako 900 mg.kg^{-1} (vypočítané z hodnot v tabuľke 1.). Uvedeným spôsobom sa dosiahla možnosť ďalšieho zakoncentrovania extraktu, nakoľko tento bol zbavený významnej časti balastných látok, a tým zníženie detekčného limitu. Nakoncentrovanie extraktov získaných z LSE extrakcie je problematické, nakoľko tieto obsahujú aj také interferujúce látky, ktoré síce nie sú viditeľné zo záznamu GC-AED, ale ich vysoký obsah by výrazne zvýšil viskozitu zahusteného extraktu.



OBR. 3. Plynovochromatografický záznam LSE extraktu repíka lekárskeho kontaminovaného prometrynom na obsah 14 mg.kg^{-1} po separácii na kolóne s Florisilom, nameraný v systéme GC-AED na uhlíkovom kanáli.

FIG. 3. Gas chromatographic (GC-AED) analyses of SFE extract of *Agrimonia eupatoria* L. contaminated by prometryne at the 14 mg.kg^{-1} concentration level after the liquid chromatographic separation on Florisil column monitored on the carbon channel.

A - C-kanál pôvodného extraktu získaného z LSE, B - C-kanál prvej (hexánovej) frakcie, C - C-kanál druhej frakcie (octanu etylnatého), D - C-kanál tretej (metanolovej) frakcie.
A - crude LSE extract, B - first fraction (hexane), C - second fraction (ethyl acetate), D - third fraction (methanol). For the details see the text.

Úprava s použitím preparatívnej kapilárnej izotachofórézy

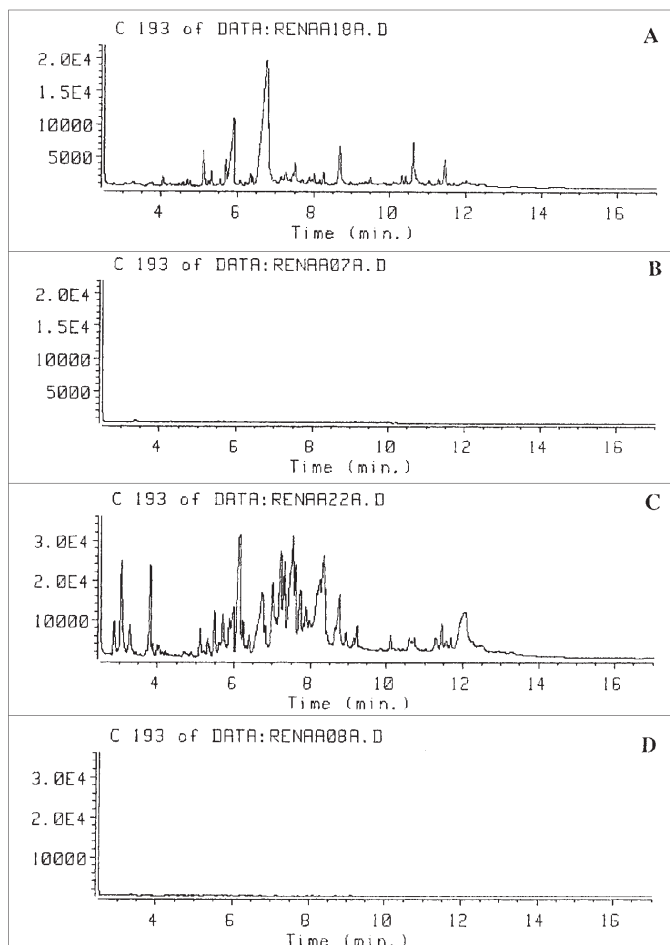
Ďalším spôsobom úpravy LSE a SFE extraktov bolo použitie preparatívnej ITP. Jej hlavná výhoda spočíva v selektívnej separácii zložiek podľa ich pohyblivosti v elektrickom poli, pričom táto pohyblivosť nemá žiadnu súvislosť s retenciou na GC-kolóne. Tým sa ukazuje možnosť dosiahnutia vysokého čistiaceho pomeru.

Na obr. 4. sú uvedené plynovochromatografické záznamy analyzovaných liečivých rastlín na uhlíkovom kanáli pred a po separácii extraktov s použitím preparatívnej kapilárnej ITP.

Z obr. 4. je zrejmé, že napriek rôznym rastlinným matriciam, ktoré dávajú odlišné chromatografické záznamy, sa po separácii pomocou preparatívnej kapilárnej ITP získali extrakty, v ktorých sa neprejavuje vplyv matrice. Z uvedeného možno usúdiť, že použitie preparatívnej kapilárnej ITP sa javí ako veľmi výhodné najmä z toho dôvodu, že nie je potrebné hľadať nové experimentálne podmienky pri úprave extraktov z rôznych rastlinných matric v porovnaní s použitím separácie na kolónach, kde daný analytický postup platí len pre daný typ matrice. Použitím pITP dochádza k takému vyčisteniu SLE extraktu, že je možná analýza prometrynu na koncentračných úrovniach nižších ako 1 mg.kg^{-1} bez zakoncentrovania extraktu. Takto upravené extrakty je možné zakoncentrovať bez toho, aby došlo k predávkovaniu kolóny a tak znížiť detekčný limit približne o jeden až dva poriadky. Je to zrejmé z tvaru chromatografickej vlny prometrynu, ktorý nie je deformovaný prítomnosťou balastných látok.

Záver

Vypracoval sa separačný postup pre stanovenie prometrynu. Uvedený systém umožňuje stanovenie prometrynu na koncentračnej úrovni 80 mg.kg^{-1} v dávkovanom roztoku. Pri extrakcii prometrynu pomocou extrakcie tuhá fáza - kvapalina sa ako vhodné rozpúšťadlo zistilo použitie metanolu. V takto získanom extrakte z LSE extrakcie eluujú okrem prometrynu aj ďalšie látky, ktoré neumožňujú stanoviť prometryn na požadovanej koncentračnej úrovni. Pri stanovení podmienok pre SFE extrakciu prometrynu z rastlinnej matrice sa ako vhodná hustota extrakčného fluida zistila hodnota $0,95 \text{ g.ml}^{-1}$ s prídavkom 10 % objemových metanolu. Maximálne množstvo vzorky extrahovateľné pomocou SFE je 0,25 g, nakoľko pri väčších množstvách dochádza k upchávaniu kapilár a ventilov. Na úpravu primárnych extraktov získaných z LSE a SFE extrakcie sa použila preparatívna kapilárna izotachofóréza. Pri uvedenom použití sa dosiahlo takmer úplné



OBR. 4. Plynovochromatografický záznam SFE extraktu satirejky obyčajnej (A, B) a šalvie obyčajnej (C, D) získaného zo SFE a po separácii s použitím preparatívnej ITP, nameraný v systéme GC-AED na uhlíkovom kanáli.

FIG. 4. Gas chromatographic (GC-AED) analyses of SFE extracts of *Satureja hortensis* L. (A, B) and *Salvia officinalis* L. (C, D) respectively, after their isotachophoretic clean-up, monitored on the carbon channel.

A - C-kanál pôvodného extraktu získaného zo SFE, B - C-kanál po separácii s pomocou preparatívnej ITP, C - C-kanál pôvodného extraktu získaného zo SFE, D - C-kanál po separácii s pomocou preparatívnej ITP.

A, C - crude SFE extracts; B, D - the same extracts as in A and C after their isotachophoretic clean-up. For the details see the text.

oddelenie prometrynu od balastných látok. Týmto systémom sa analyzovali aj reálne vzorky (dodané pestovateľom liečivých rastlín) a zistilo sa, že prečistenie primárnych extraktov pomocou pITP je určované len experimentálnymi podmienkami na ITP a vôbec nezávisí od typu matrice. V žiadnej z analyzovaných reálnych vzoriek nebola zistená prítomnosť prometrynu na koncentračnej úrovni vyššej ako 200 mg.kg⁻¹ v suchej matrici.

Literatúra

1. JAVORSKÝ, P. - KREČMER, F. - UHNÁK, J.: Chemické rozbory v zemédělských laboratořích. Praha, Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR, 1987, s. 9-32.
2. TEKEL, J. - KOVAČIČOVÁ, J.: Otázky analýzy reziduí herbicídov v poživatinách. Agrochémia (Bratislava), 29, 1989, s. 22-25.
3. Vyhláška ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 2/1994 Z.z., ktorou sa ustanovujú hygienické požiadavky na cudorodé látky v poživatinách.
4. DEAN, J. R. - WADE, G. - BARNABAS, I. J.: Determination of triazine herbicides in environmental samples. J. Chromatogr. A, 733, 1996, s. 295-335.
5. ŠELMECIOVÁ, L.: Kapilárna izotachoforéza pri analýze triazínových herbicídov. [Diplomová práca.] Bratislava, 1993. 65 s. - Univerzita Komenského. Prírodovedecká fakulta.

Do redakcie došlo 5. 5. 1997.

Analysis of prometryne residues in plant samples coupling preparative isotachopheresis and gas chromatography

KUBINEC, R. - MARÁK, J. - GRAUSOVÁ, J. - DANKOVÁ, M. - KANIANSKY, D. - ŠTEKLÁČ, M.:
Bull. potrav. Výsk., 36, 1997, p. 9-20.

SUMMARY. The determination of prometryne in plants following the solid-liquid and supercritical fluid (SCF) extractions is described. The cleaning procedure of the crude extracts based on column (liquid) chromatography and preparative capillary isotachopheresis with final gas chromatographic separation and element selective detection (atomic emission detection) was evaluated.