

Naučni rad
 Scientific Paper
 UDK: 582.572.225:543.544.5

Određivanje sadržaja imidakloprida u luku tečnom hromatografijom (HPLC)

A. Mandić¹, S. Lazić² i D. Indić²

¹Tehnološki fakultet, Novi Sad i ²Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

REZIME

Insekticid imidaklopid se u svetu najčešće koristi za tretiranje povrća, krompira, šećerne repe, voća, žitarica, kukuruza i pirinča. U ovom radu su određivani ostaci imidakloprida u uzorcima luka. Priprema uzoraka se sastojala od ekstrakcije imidakloprida iz luka dihlormetanom. Dobijeni ekstrakt je prečišćen ekstrakcijom na čvrstoj fazi (Florisil). Razvijena je HPLC-DAD metoda određivanja imidakloprida na reverznoj fazi, uz korišćenje smeše 0.01 M fosfatog pufera (pH = 3.15) i acetonitrila. Određeni su efikasnost, ponovljivost, linearnost, granica detekcije i kvantifikacije predložene metode.

Ključne reči: Imidaklopid; luk; HPLC

UVOD

Imidaklopid [1-(6-chloro-3-pyridyl-methyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylidene amine] je relativno nov sistemski i kontakti insekticid koji je efikasan za suzbijanje afida, belih mušica, tripsa, štetaštih vaši, psilida, biljnih stenica i drugih štetnih insekata, uključujući i rezistentne sojeve (Moffat, 1993). U svetu se najčešće koristi na povrću, krompiru, šećernoj repi, voću, žitaricama, kukuruzu i pirinču. U našoj zemlji imidaklopid ima dozvolu za primenu u usevima krompira, duvana, hmelja i paprike, a u kombinaciji sa pensikuronom i za tretiranje krtola semenskog krompira.

Ostaci imidakloprida u uzorcima hrane obično se analiziraju gasnom i tečnom hromatografijom (GC i HPLC), kao i elektroanalitičkim, fluorimetrijskim i imunoanalitičkim metodama.

Metoda gasne hromatografije sa masenim spektrometrom (GC-MS) je u širokoj upotrebi za određivanje imidakloprida u biljnom materijalu, iako se imida-

klopid, zbog niske isparljivosti, ne može analizirati direktno, bez derivatizacije (Placke i Weber, 1993).

HPLC metode za određivanje ostataka imidakloprida u različitim vrstama voća i povrća za detekciju koriste UV (Ishii i sar., 1994), Diode Array Detector (DAD), (Fernandez-Alba i sar., 1996), fluorescentni detektor (López-López i sar., 2001), ili maseni spektrometar (MS) (Blasco i sar., 2002).

Cilj ovog rada bio je određivanje sadržaja ostatka imidakloprida u luku nakon primene preparata *Prestige 290-FS* za tretiranje sadnog materijala crnog luka, tečnom hromatografijom na reverznoj fazi uz DAD detekciju, korišćenjem predložene metode ekstrakcije i mobilne faze za HPLC. Preparat *Prestige 290-FS* u našoj zemlji nema dozvolu za primenu u luku, pa je ogled sa ovim preparatom izveden kako bi se proverila njegova efikasnost i procenila fitotoksičnost, a ostaci imidakloprida određivani su sa ciljem da se provere maksimalno dozvoljene količine (MDK) ostataka.

MATERIJAL I METODE

U radu su korišćeni rastvarači HPLC čistoće i analitički standard imidakloprida čistoće 99.9% (Pestanal, Riedel-de-Haen). Sadni materijal crnog luka je neposredno pre sadnje tretiran preparatom *Prestige 290-FS* (Bayer AG, Leverkusen, Nemačka). Aktivne komponente preparata su imidakloprid (140 g/l) i pensikuron (150 g/l). Lukovice (100 kg) su tretirane sa 100 ml preparata *Prestige 290-FS* razblaženog u 300 ml vode (Mitić, 2002).

Osnovni rastvor standarda pripremljen je rastvaranjem analitičkog standarda imidakloprida u acetonitrilu. Rastvor je do upotrebe čuvan na + 4 °C. Serija rastvora standarda za kalibraciju pripremana je razblaživanjem osnovnog rastvora u 0.01 M fosfatnom puferu (pH = 3.15). Fosfatni pufer je pripremljen od kalijum-dihidrogen fosfata (za hromatografiju, Kemika, Zagreb) i orto-fosforne kiseline (Carlo Erba, Milano, Italija) u vodi HPLC čistoće. Svi uzorci su rastvoreni u smeši 0.01 M fosfatni pufer (pH = 3.15): acetonitril (1:1 v/v) i filtrirani kroz Millipore membranske filtere (0.45 µm) pre hromatografisanja. Mobilna faza, 0.01 M fosfatni pufer (pH = 3.15) : acetonitril (75:25 v/v) degazirana je helijumom pre upotrebe.

HPLC analiza

U radu je korišćen tečni hromatograf, HP 1090 Liquid Chromatograph (Hewlett-Packard) opremljen sa DAD detektorom. Za razdvajanje imidakloprida korišćena je kolona Hypersil MOS (200 x 2.1 mm i.d., 5 µm), sa mobilnom fazom 0.01 M fosfatni pufer (pH = 3.15) : acetonitril (75:25 v/v) pri protoku 0.200 ml/min, na 30 °C. U aparat je injektovano 10 µml rastvora. Pik imidakloprida detektovan je na 270/4 nm.

Priprema uzoraka

U radu su korišćeni uzorci luka, koji nije tretiran (kontrolni uzorak), i uzorci luka dobijeni iz sadnog materijala tretiranog preparatom *Prestige 290-FS*, uzetih sa lokacija "Šančevi" i "Futog".

Količina od 10 g homogenizovanog kontrolnog uzorka obogaćena je sa 1.0, 0.5 i 0.25 ml radnog rastvora standarda imidakloprida koncentracije 1 µg/ml, i ostavljena da stoji 30 minuta na sobnoj temperaturi. Ove vrednosti predstavljaju 0.1, 0.5 i 0.025 mg/kg imidakloprida u uzorku. Nakon dodatka bezvodnog natrijum-sulfata i 50 ml dihlormetana i homogenizacije uzorka u ultrazvučnom kupatilu, ekstrakt dihlormetana je uparen do suva na rotacionom vakuum uparivaču, na 40 °C. Dobijeni suvi ostatak je rastvoren u 5 ml heksana. Ekstrakt je prečišćen na čvrstoj fazi florisila (SPE, LC-Florisil (6 ml) disposable cartridge). Kolona je kondicionirana sa 4 ml acetona, i zatim sa 4 ml heksana; 2 ml ekstrakta je naneseno na kolonu, a eluiranje je izvedeno sa 6 ml smeše heksan : aceton (9:1 v/v), i zatim sa 6 ml acetonitrila. Prečišćeni ekstrakt uparen je do suva na rotacionom vakuum uparivaču, na 40 °C.

Suvi ostatak je rastvoren u 1 ml smeše 0.01 M fosfatni pufer (pH = 3.15): acetonitril (1:1 v/v) i pre hromatografije filtriran kroz Millipore membranski filter (0.45 µm). Kontrolni uzorci i uzorci tretiranog luka primpremljeni su na isti način, ali bez obogaćivanja. Sve analize su izvedene u tri ponavljanja.

REZULTATI

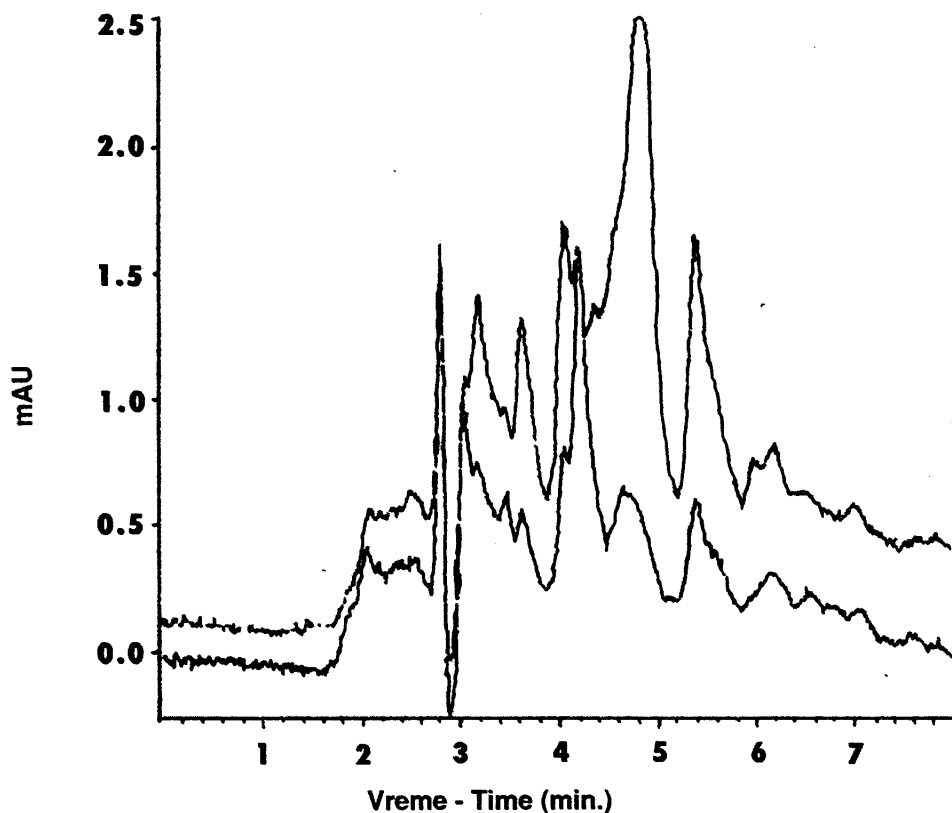
Validacija hromatografskih uslova je izvedena ispitivanjem linearnosti odziva detektora, ponovljivosti, određivanja granice detekcije i kvantifikacije. Takođe, ispitana je i efikasnost metode. Odziv detektora je linearan u ispitanoj opsegu od 0.005 do 5 mg/kg ($r^2 = 1$). Vreme retencije imidakloprida iznosi 5.489 mi-

nuta, a ispitano je u deset ponavljanja. Relativna standardna devijacija (R. S. D.) retencionog vremena imidakloprida je manja od 0.1%, a za površinu pika manja od 5%. Granica detekcije je 0.006 mg imidakloprida/kg, granica kvantifikacije 0.0125 mg imidakloprid/kg, za korišćenu metodu. Ispitivanjem efikasnosti metode na kontrolnim uzorcima obogaćenim imidaklopridom koncentracija 0.1, 0.05 i 0.025 mg imidakloprida/kg, dobijeni su sledeći prinosi: 71.85, 99.6 i 93.90%. Radni rastvor standarda, je, takođe, prošao kroz proceduru pri-

preme i prečišćavanja i dobijen je prinos od 100%.

Kontrolni uzorak luka nema pik na retencionom vremenu koje odgovara piku imidakloprida, tako da se može zaključiti da pik (1), na hromatogramu potiče od imidakloprida (Slika 1). Poređenjem dobijenog UV spektra pika standarda imidakloprida sa odgovarajućim pikom uzorka (A i B), može se zaključiti da je pik (1) imidakloprid.

Ostatak imidakloprida određen je u uzorcima luka tretiranih preparatom *Prestige 290-FS*. Srednja vrednost sadržaja



Sl. 1. HPLC hromatogrami: A) uzorka luka nakon tretiranja preparatom *Prestige 290-FS*; B) kontrolni uzorak luka obogaćen sa 0.025 mg imidakloprida/kg; 1. pik imidakloprida

Fig. 1. HPLC chromatograms of: A) onion sample treated with preparation *Prestige 290-FS*; B) onion control sample fortified at 0.025 mg/kg; 1. peak of imidakloprid.

imidakloprida u uzorku sa lokaliteta "Šančevi" iznosi 0.0078 mg imidakloprida/kg, a sa lokaliteta "Futog" 0.0095 mg imidakloprida/kg.

Iz dobijenih rezultata određivanja linearnosti odziva detektora, ponovljivosti, određivanja granice detekcije i kvantifikacije, kao i ispitane efikasnosti metode, može se izvesti zaključak da se metoda može koristiti za određivanje ostataka imidakloprida u luku. Sadržaj ostataka imidakloprida u uzorcima sa dva različita lokaliteta niži je od propisane maksimalne dozvoljene količine (0.05 mg/kg).

LITERATURA

Blasco C., Fernández M., Picó Y. and Front G., Mañes J.: Simultaneous determination of imidacloprid, carbendazim, methiocarb and hexythiazox in peaches and nectarines by liquid chromatography-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **461**, 109-116, 2002.

Napomena

Ova istraživanja finansiralo je Ministarstvo za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije, u okviru projekata BTN. 3.1.6.0436.B i 1622.

Fernandez-Alba A. R., Valverde A., Aguera A., Contreas M., and Chrion S.: Determination of imidacloprid in vegetables by high-performance liquid chromatography with diode-array detection. *J. Chromatogr. A.*, **721**, 97-105, 1996.

Ishii Y., Kobori I., Araki Y., Kuroguchi S., Iwaya K., and Kagabu S.: HPLC determination of the new insecticide imidacloprid and its behavior in rice and cucumber. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 2917-2921, 1994.

López-López T., Gil-García M. D., Martínez-Vidal J. L., and Martínez-Galera M.: Determination of pyrethroids in vegetables by HPLC using continuous on-line postelution photoirradiation with fluorescence detection. *Anal. Chim. Acta.*, **447**, 101-111, 2001.

Mitić N.: Pesticidi u poljoprivredi i šumarstvu u Jugoslaviji 2002 (14. izdanje). Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd, 2002.

Moffat A. S.: New chemicals seek to outwit insect pest. *Science*, **261**, 550-551, 1993.

Placke F. J., and Weber E.: Method of determining imidacloprid residues in plant materials. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 46/1993, **2**, 109-182, 1993.

HPLC-DAD Determination of Imidacloprid in Onion

SUMMARY

Imidacloprid is an insecticide most commonly used on vegetables, potato, sugar beet, fruit, cereal, maize and rice. Imidacloprid residue has been determined in spiked onion and in onion samples. Sample preparation consisted of dichloromethane extraction of imidacloprid from onion, followed by purification of the obtained extract on a LC-Florisil disposable cartridge. The HPLC-DAD method has been developed on reversed-phase for separation of imidacloprid with a mixture of 0.01 M phosphate buffer (pH = 3.15): acetonitrile. Recovery of imidacloprid, repeatability, linearity, limit of detection and limit of quantification have been determined.

Key words: Imidacloprid; Onion; HPLC
