XI. FIATAL MŰSZAKIAK TUDOMÁNYOS ÜLÉSSZAKA

Kolozsvár, 2006. március 24-25.

DIASZTEREOMEREK ELVÁLASZTÁSA NORMÁL FÁZISÚ FOLYADÉKKROMATOGRÁFIÁVAL

Oláh Erzsébet

To increase the agricultural production insecticides must be used but their residues in the environment cause some difficulties. For example the cypermethrin residues are fatal for fish at ppm level. Recent study pointed out of its risk because large scale application.(ide a TRAC cikk). The structure of cypermethrin can be seen in figure 1. Cypermethrin has three asymmetric carbon atoms, so it has four diastereomers and their biological activity against pests are largely different. In spite of well known fact that their hydrolysis in the environment is quite fast the bioaccumulation of diastereomers might be different. To get information about this phenomenon a reasonable analytical method must be worked out both cypermethrin and their metabolites or degradation products. A systematic study was conducted. First we started to apply the popular reversed phase chromatography. Several different type RP phase was tested (Silica A, Silica B C-18, C-30) but no diastereomer separation was achieved. The less popular normal phase chromatography was successfully applied and both stationary and mobile phase effect was carefully studied. Both silica and alumina columns showed high stereoselectivity but bonded phase (nitril) can be used only with n-hexane – acetonitrile binary mixture at near the miscibility concentration. In details will be discussed in the lecture and the practical application of method worked out for residues determination from water.

Manapság egyre nagyobb környezetvédelmi problémát jelentenek a rovarölő szerek. Munkám során a piretroidok családjába tartozó cipermetrin diasztereomereket választottam el normál fázisú nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával. Ezt a vegyületet inszekticidként alkalmazzák. A cipermetrinnek három optikailag aktív szénatomja van, ebből adódóan 8 enantiomerje, a diasztereomerek száma fele az enantiomerek számának, azaz 4. A diasztereomerek elválasztása fordított fázisú folyadékkromatográfiás módszerekkel nem lehetséges. Feladatom az volt, hogy optimalizáljam az álló ill. mozgó fázist, valamint egy módszert dolgozzak ki a cipermetrin diasztereomerek kimutatására vízből. Kísérleteim során kiderült, hogy az acetonitril a diasztereomerek elválasztásában másként viselkedik, mint az általam vizsgált többi mozgó fázis. Ez feltevésünk szerint az acetonitril pórus kitöltő mechanizmusával

magyarázható. Munkám során sikerült kidolgoznom egy módszert cipermetrin diasztereomerek kvalitatív kimutatására vízből.

1. A β -cipermetrin

A β -cipermetrin a cipermetrin, mint ipari termék a növényvédelem szempontjából a két legnagyobb biológiai aktivitású diasztereomert tartalmazza főalkotóként, kettőt pedig szennyezőként.

Tesztvegyületnek a β -cipermetrint választottam, ami annyiban tér el a cipermetrintől, hogy a négy diasztereomer közül kettőt főalkotóként, kettőt pedig szennyezőként tartalmaz. A cipermetrin molekula 3 kiralitáscentrumot tartalmaz, lásd (1.) ábra

1. ábra: cipermetrin szerkezeti képlete

A mezőgazdasági termékek károsításában az egyik legjelentősebb szerepet a rovarok játsszák. Az ellenük való kémiai védekezés rovarölő szerekkel történik. A pyrethrum – a *Chrysanthemum cinerariifolium* növény porított virága – és e növény virágaiból kivont pyrethrinek több évszázada alkalmazott rovarölőszerek. A növényt a mediterrán országokban, valamint Kenyában és Japánban termelik. A piretroidok a rovarok szervezetében specifikus idegméregként hatnak. Melegvérű élőlényekre alig toxikusak, ezért háztartásokban kiterjedten használhatók legyek és más élősködők ellen. További nagy előnyük, hogy a rovarokban nem fejlődik ki rezisztencia [1].

2. Normál fázisú folyadékkromatográfiás mérések

A normál fázisú rendszerben végzett mérések során arra a következtetésre jutottunk, hogy a legkülönbözőbb poláris modifikátort tartalmazó hexán mozgófázis esetén a Novapak állófázis bizonyult az adott körülmények között megfelelőnek a β -cipermetrin szennyezők elválasztására. Ennél az oszlopnál kaptunk a legtöbb poláris modifikátor esetén megfelelő elválasztást ($1 < k < 10$).

Az acetonitril azért is különleges a vizsgálatok szempontjából, mert a mérés során a második és a harmadik diasztereomer elválasztása okozott problémát, míg a többi poláris modifikátor esetében az első, második illetve a harmadik, negyedik diasztereomer elválasztása volt kritikus.

Az acetonitrilnek a többi poláris modifikátortól való eltérése a pórusok kitöltésének mechanizmusából következik, lásd (2.) ábra.

2. ábra: Acetonitril pórus kitöltő mechanizmusa

Míg más poláris modifikátorok, mint például az ábrán is jelölt propanol csak a pórusok egy részét töltik ki, addig az acetonitril elfoglalja a pórus nagy részét. Ennek a viselkedésnek köszönhetően a szabad mozgó fázis csak kis mértékben van jelen a pórusokban. Acetonitril esetén gyakorlatilag folyadék-folyadék megoszlásról lehet beszélni, míg a többi poláris modifikátor (etil-acetát, di-izopropil-éter, terc-butil-metil-éter, acetonitril, diklór-metán) esetén folyadék szilárd megoszlás van.

4. Módszer alkalmazása természetes vízmintákra

4.1. Mintaelőkészítés

A Dunából a part mentén 30 cm mélyről vízmintát vettem [3] Vizsgálataink során választ kerestünk arra is, hogy a β -cipermetrin megkötődik-e a Dunában lévő szilárd szennyeződések felületén. Ezért kétféle módon készítettük elő a mintákat. Az egyik esetben a vizet durva szűrőn leszűrtük (hogy a lebegő anyagot eltávolítsuk), majd β -cipermetrint addicionáltunk a mintához, míg a másik esetben a vízmintákhoz β -cipermetrint adtunk és csak aztán szűrtük le durva szűrőn.

β -cipermetrinre nézve 0,1; 0,5; 1; 5 ppm-es oldatokat készítettünk.

Majd az oldatokat oldatokat C-18-as Sep-Pakokon vákuum segítségével átszívattuk. A víz átszívása után 15 percig levegővel szárítottuk a Sep-Pakokat. Végül a Sep-Pakon fennmaradt β -cipermetrint 5 ml diklór-metánnal oldottuk vissza.

4.2. Vizsgált oszlopok és oldószerek:

- Licrosorb Si 60 (5 μ m, 250 x 4 mm, Merck) – továbbiakban **Silica 1**
- Micropak Si-10, (30 cm x 4 mm) – továbbiakban **Silica 2**
- Spherisorb Alumina (5 μ m, 250 x 4 mm) – továbbiakban **Alumina**
- Aluspher Al-100, (5 μ m, 250 x 4 mm, Merck) – továbbiakban **Aluspher**
- Nova Pak Silica (3,9 x 150 mm, Waters) – továbbiakban **NovaPak**
- LiChrosorb CN (5 μ m, 250 x 4 mm) – továbbiakban **Nitril**

- Purospher Star Si (5 μ m, 250 x 4 mm) – továbbiakban **PurospherStar**Poláris modifikátorok: terc-butil-metil-éter, diklór-metán, di-izo-propiléter, etil-acetát, acetonitril

4.2. Mérések értékelése

Nincsenek irodalmi adatok a cipermetrin oldhatóságára vonatkozóan. Ezért megvizsgálva hasonló vegyületek lgP értékét következtethetünk a cipermetrin oldhatóságára. A benz(a)pirin lgP értéke 6,48 míg a cipermetrin lgP értéke 6,09 [4] Figyelembe véve, hogy a benz(a)pirin oldhatósága 1-12 ppb, így feltételezhető hogy a cipermetrin oldhatósága is ppb szinten van. Méréseink során a cipermetrin oldhatósága is határt szabott az adott koncentráció tartományon belül történő meghatározásnak.

Különböző laboratóriumokban azonos típusú műszerek is eltérő érzékenységet mutatnak. Éppen ezért laborról-laborra változik a kimutatási határ. Kis mennyiségek esetén bizonytalan a kvantitatív meghatározás, de a módszer kvalitatív meghatározásra alkalmas lehet. Különböző vizsgáló szervezeteket bizonyos anyagok esetén (pl.: hormonok, teljesítmény fokozók) csak kvantitatív meghatározás érdekli. Ezekben az esetekben megadnak egy ún. beavatkozási határt (action limit, AL), ezen határ felett a vizsgált anyagot jelen lévőnek tekintik, ha pedig a mérési eredmény ez alatt az érték alatt van, akkor nemleges választ adnak.[5] β -cipermetrin esetén sem beszélhetünk mennyiségi meghatározásról, csak minőségiről, hiszen az általunk vizsgált 0,1-5 ppm-es tartományban problémát okoz a β -cipermetrin oldhatósága, apoláris jellegéből származó megkötődése a különböző felületeken.

5. Irodalom jegyzék

- [1] K. Naumann: Synthetic Pyrethroid Insecticides. Structure and Properties. Springer-Verlag, Berlin, 1990
- [2] S. Görög, M. Gazdag: *J. Chromatogr. B*, **659** (1994), 51-84
- [3] MSZ ISO 5667-6
- [4] Pallas 3.0 CompuDrug International Institute, Inc., POB 160, Budapest 1255, Hungary
- [5] Hubert F. De Brabander, Peter Batjaens, Katia De Wasch, Dirk Courtheyn, Gaspard Pattie, Felis Smets: Qualitative or quantitative methods for residue analysis

Név: **Oláh Erzsébet** (hallgató)

Munkahely: Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, 1111 Budapest Gellért tér 4.

Telefon: 061 463-3409

e-mail: e.olah@freemail.hu