

Д. Алтынбек, А.Д. Серикбаева, С.К. Ордабаева
«Оңтүстік Қазақстан Медицина Академиясы» АҚ
Фармацевтикалық және токсикологиялық химия кафедрасы, Шымкент қ., Қазақстан

БИОМАТРИЦАДАҒЫ НЕОНИКОТИНОИДТАРДЫ АНЫҚТАУДЫҢ ЖҰҚА ҚАБАТТЫ ХРОМАТОГРАФИЯЛЫҚ СКРИНИНГІ

Жұқа қабатты хроматографиялық скрининг әдісімен биоматрицадан оқшауланған неоникотиноидтарды идентификациялау әдістемесі жасалды. Зерттеу барысында гексан-ацетон-хлороформ (2:2:1) жылжымалы фазасынан тұратын оңтайлы еріткіштер жүйесі таңдалды. Ацетамиприд, иминоклоприд, тиоклоприд, тиометаксам үшін УК-сәулесі ең сезімтал детектрлеуші құрал ретінде анықталды.

Түйінді сөздер: неоникотиноидтар, ацетамиприд, иминоклоприд, тиоклоприд, тиометаксам, жұқа қабатты хроматография, скрининг

Кіріспе

Неоникотиноидты инсектицидтер өсімдіктерді қорғаудың интегралды жүйесінде және зиянкестердің фосфорорганикалық және басқа пестицидтерге резистенттілігін жою мақсатында кеңінен қолданылады. Картоп, қияр, қызанақ дақылдарын өсіру кезінде «Моспилян» (ацетамиприд), «Император» (иминоклоприд), «Калипсо» (тиоклоприд), «Актара» (тиометаксам) химикаттарын қолдану барысында 100% биологиялық тиімділікке қол жеткізілген. Қорғаныс кезеңінің ұзақтығы 3-4 апта болғандықтан зиянкестерді жою мақсатында бұл неоникотиноидтар қайталап қолданылады, нәтижесінде нақты объектілердегі қалдық мөлшері көп әралуан компонентті қоспалар болып табылады [1,2].

Сараптама жүргізу процесінде әртүрлі объектілердегі ұлы химикаттардың қалдық мөлшерін анықтау кезінде талдаудың қателіктері көп кездеседі. Сондықтан, талдау процестерін жетілдіру бойынша зерттеулер үнемі жүргізіледі. Пестицидтер бойынша ИЮПАК комиссиясы химик-аналитиктерге пестицид қалдық мөлшерін талдау барысында көпкомпонентті қалдықтарды бір мезетте анықтайтын әдістемелерді таңдауды ұсынады. Себебі, өсімдіктер әртүрлі бағыттағы химиялық құрылысы әралуан композициядағы пестицидтермен өңделеді [3-5].

Сондықтан, пестицидтер тізімінің үнемі өзгеруі, қиылыстырған интоксикациялар, химия-токсикологиялық зерттеуге келіп түсетін объектілердің шағын мөлшерінің болуы сарапталық талдауда жоғары сезімтал және селективті әдістемелерін жасауды талап етеді. Өйткені, әдебиет шолу барысында қазіргі таңда неоникотиноидтарды және никотиноидтардың әсер ету типі мен құрылымы ұқсас химикаттарды анықтау әдістемесі жасалмағандығы анықталды. Химия-токсикологиялық талдау объектілерінде физикалық және химиялық қасиеттері бір-біріне өте жақын, анықталуы қиындық тударытан пестицидтер қоспасы болуы мүмкін. Неоникотиноидтар қоспасын ашу үшін ең қолайлы жұқа қабатты хроматография әдісі болып табылады [6].

Материалдар мен әдістер

Зерттеу объектілері ретінде биообъекттен оқшауланған химикаттар қоспасы, ацетамиприд (Сигма-Альдрих, №08694, Германия), иминоклоприд (29389030322, Қытай), тиоклоприд (49389030355, Қытай), тиометаксам (73389030355, Қытай) стандартты үлгілері, ЖҚХ әдістемесін жүргізуге арналған құралдар жинағы: пластинка «Sorbfil ПТСХ-П-А» (10×10); микрошприцтер «МШ-10», «МШ-1» (ОАО «Цвет»), хроматографиялық камера, УК-хроматоскоп (Ленхром, УФ-кабинет 254/365), ЖҚХ арналған кептіргіш (УСП 1М); лабораториялық электронды аналитикалық таразы (ОНАУС Pioneer, Швейцария); «х.т.» и «т.д.т.» реактивтер мен еріткіштер: хлороформ, гексан, 96% этанол, мұзды сірке қышқылы, ацетон, изопропил, диэтилэфир, толуол қолданылды.

Биологиялық объектілерден неоникотиноидтарды оқшаулау әдістемесі. Құрамында 1 мг/мл концентрациядағы ацетамиприд, иминоклоприд, тиоклоприд, тиометаксам 5 мл несеп үлгісін көлемі 20 мл конус түпті шыны пробиркаға енгізілді. 5 мл көлемді шприц көмегімен құрамында 200 мкл хлороформы бар 2 мл ацетонитрил (диспергатор) зерттелетін ерітіндіге шашыратылды. Түзілген лайлы қоспаны центрифугада 10 мин 3000 айн/мин центрифугалайды. Центрифугирленгеннен кейін диспергатордың майда тамшылары пробирканың астына түседі. Тұнбаға түскен фазаны микрошприц көмегімен басқа пробиркаға ауыстырып, құрғақ қалдық қалғанша буландырады. Құрғақ қалдықты хлороформмен ерітеді.

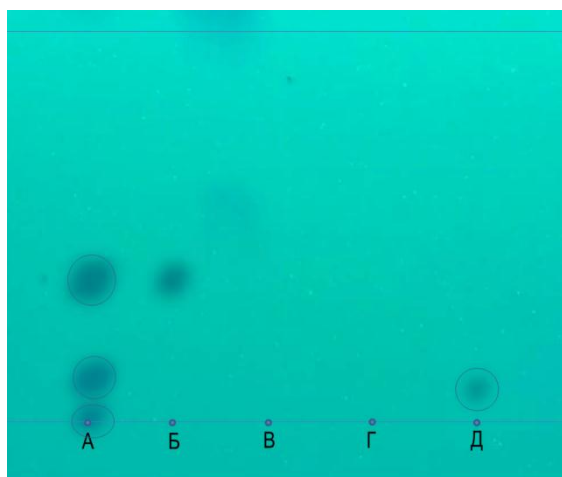
ЖҚХ-скрининг жүргізу әдістемесі: ««Sorbfil ПТСХ-П-А» (10×10) пластинкасының старт сызығына 10 мкл (100мкг) зерттелетін ерітіндіні және 5 мкг (10 мкг) ацетамиприд, иминоклоприд, тиоклоприд, тиометаксам химикаттарының хлороформдағы ерітінділері микрокапилляр көмегімен 5 мкл көлемінде енгізіп, гексан-ацетон-хлороформ ерітіндісінен (2:2:1) еріткіштер жүйесінің буымен қаныққан камераға орналастырады. Еріткіштер мәре сызығына жеткен кезде, пластинканы алып, ауада толық еріткіштер иісі кеткенге дейін кептіріп, 245 нм толқын ұзындығындағы УК-жарықта детекцияланады.

Нәтижелер мен талқылау

Пестицидтер қоспасын биологиялық матрицадан оқшаулау дисперсионды сұйық-сұйықтық микроэкстракция әдісі бойынша жүргізілді. Экстрагент ретінде хлороформ, дипергирлеуші реагент - ацетонитрил қолданылды.

Неоникотиноидтарды ЖҚХ-скрининг әдісімен анықтау барысында Шталь элюотропты қатары мен Токсикологтардың халықаралық ассоциациясының (TIAFT) нұсқауларына сай ЖҚХ-скринингтің бағытталма-ған талдауында қолданылатын, негіздік қасиет көрсететін заттарды анықтауға арналған еріткіштер жүйесін қолдана отырып жүргізілді. Эксперимент жүргізу барысында толуол, ацетон, метил, этил, изопропил спирттері, диоксан, хлороформ, гексан қолданылды.

Тәжірибе нәтижесінде байқалғандай хлороформ-гексан-96% этанол-мұзды сірке қышқылы (8:8:1:1) қоспасынан тұратын жылжымалы фазасында химикаттардың жылжымалдылығы жеткілікті деңгейде жоғары емес, пайда болған дақ старт сызығына жақын орналасып, R_f мәні 0,12 құрады және тіпті дақ пайда болмады (сурет 1).

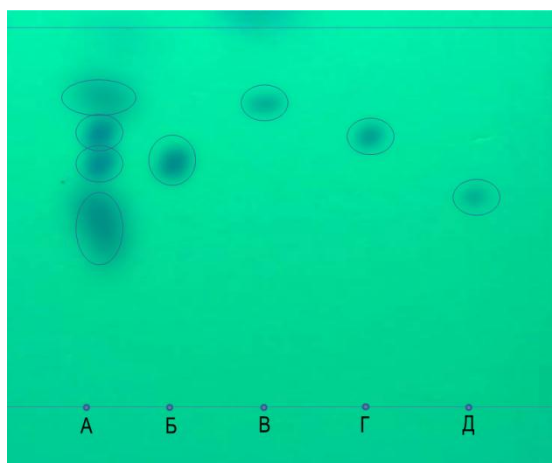


Сурет 1 – Хлороформ-гексан-96% этанол-мұзды сірке қышқылы (8:8:1:1) фазасындағы химикаттар қоспасының хроматограммасы:

- A – зерттеу үлгісінің ерітіндісі
- Б – кәуә заттың (ацетамиприд) ЖСҮ ерітіндісі;
- В – кәуә заттың (имидоклоприд) ЖСҮ ерітіндісі;
- Г – кәуә заттың (тиоклоприд) ЖСҮ ерітіндісі;
- Д – кәуә заттың (тиометаксам) ЖСҮ ерітіндісі.

Төменде көрсетілген хроматограммада диэтилэфир-толуол (1:1) қоспаларынан тұратын жылжымалы фазада химикаттардың жылжымалдылығы жоғары деңгейде болып, дақтар финиш сызығына жақын орналасып, R_f мәндері 0,72, 0,86, 0,78, 0,69 құрады (сурет 2).

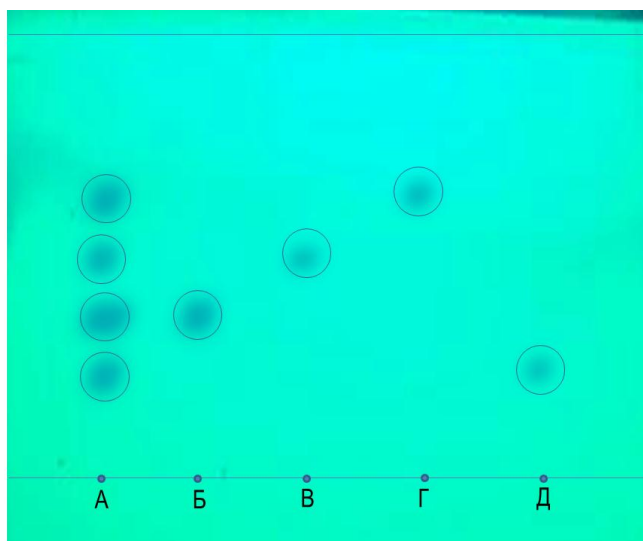
Мәйіт материалының шіру процестері кезінде нәруыздар төмен молекулалы аминдерге дейін ыдырайды. Хроматографиялау кезінде осы аталған қосылыстар R_f мәні финишке жақын аймақта болды. Сондықтан, талдауға алынған заттардың R_f мәні жоғары болатын еріткіштер жүйесі скрининг үшін жарамсыз болып табылды. Сонымен қатар, осы еріткіштер жүйесінде зерттеу ерітіндісінің дағы аймағында бөгде дақтар пайда болып, кейбір талдауға алынған заттардың ыдырағандығын байқауға болады.



Сурет 2 – Диэтилэфир-толуол (1:1) жылжымалы фазасындағы химикаттар қоспасының хроматограммасы

- A – зерттеу үлгісінің ерітіндісі
- Б – кәуә заттың (ацетамиприд) ЖСҮ ерітіндісі;
- В – кәуә заттың (имидоклоприд) ЖСҮ ерітіндісі;
- Г – кәуә заттың (тиоклоприд) ЖСҮ ерітіндісі;
- Д – кәуә заттың (тиометаксам) ЖСҮ ерітіндісі.

Әрі қарай зерттеулерді гексан-ацетон-хлороформ ерітіндісінен (2:2:1) тұратын жүйеде жүргізілді. Бұл жүйе зерттелініп отырған химикаттар қоспасын оптималды мөлшерде бөліп, шағын, шекарасы айқын, анық хроматографиялық дақтар алынуына мүмкіндік берді. Сығындыдағы неоникотиноидтар қоспасы бір-бірінен жақсы бөлініп, адсорбциялану аймағы стандарт үлгілерімен бір деңгейде тұрғандығын көруге болады (сурет 3).



Сурет 3 – Гексан-ацетон-хлороформ ерітіндісінен (2:2:1) жылжымалы фазасындағы химикаттар қоспасының хроматограммасы

- А – зерттеу үлгісінің ерітіндісі
 Б – кәуә заттың (ацетамиприд) ЖСҮ ерітіндісі;
 В – кәуә заттың (имидоклоприд) ЖСҮ ерітіндісі;
 Г – кәуә заттың (тиоклоприд) ЖСҮ ерітіндісі;
 Д – кәуә заттың (тиометаксам) ЖСҮ ерітіндісі.

Кесте 1 – Жалпы еріткіштер жүйесіндегі неоникотиноидтардың R_f мәні ($n=6$)

Зерттелуші зат	Еріткіштер жүйесі		
	хлороформ-гексан-96% этанол-мұзды сірке қышқылы (8:8:1:1)	диэтилэфир-толуол (1:1)	гексан-ацетон-хлороформ (2:2:1)
Ацетамиприд	0,22±0,03	0,72±0,03	0,45±0,03
Имидоклоприд	–	0,86±0,03	0,55±0,03
Тиоклоприд	–	0,78±0,03	0,63±0,03
Тиометаксам	0,12±0,03	0,69±0,03	0,32±0,03

Гексан-ацетон-хлороформ (2:2:1) еріткіштер жүйесін тек неоникотиноидтар идентификациясы үшін ғана емес, сонымен қатар биологиялық матрицадағы қоспалардан тазарту үшін қолданылатын жүйе ретінде ұсынуға болады (кесте 1).

Хроматографиялық пластинадағы дақтарды детектрлеу құралы ретінде: УК-сәуле, Драгендорф реактиві, Мунье бойынша өзгертілген Драгендорф реактиві, Бушард, Марки, Манделин реактивтері қолданылды.

Зерттеу нәтижесінде неоникотиноидтар УК-сәуле, Драгендорф реактиві, Мунье бойынша өзгертілген Драгендорф реактивтерімен әртүрлі түс беріп, ашу сезімталдылығы 0,5-10 мкг аралығында өзгеріп отыратындығын көрсетті. Ал Бушард, Марки реактивтерімен сезімталдығы өте төмен болды, Манделин реактивімен түс бермеді (кесте 2).

Кесте 2 – Неоникотиноидтарды түсті реагенттермен идентификациялау нәтижелері

Детектрлеуші құрал	Ацетамиприд	Имидоклоприд	Тиоклоприд	Тиометаксам
	Аналитикалық эффект, ашу шегі (мкг)			
УК-сәуле	көк түсті, 0,5	көк түсті, 0,5	көк түсті, 0,5	көк түсті, 0,5
Драгендорф реактиві	таңқурай түсті, 5	қызыл түсті, 5	таңқурай түсті, 5	таңқурай түсті, 5
Мунье бойынша өзгертілген Драгендорф реактиві	таңқурай түсті, 3	таңқурай түсті, 3	таңқурай түсті, 3	таңқурай түсті, 3

Бушард реактиві	таңқурай түсті, 15	қызыл түсті, 15	қызыл түсті, 15	қызыл түсті, 20
Марки реактиві	сары түсті, 20	қызыл-сары түсті, 20	қызыл түсті, 20	қызыл түсті, 20
Манделин реактиві	–	–	–	–

Қорытынды

Улы химикаттардың бағытталмаған талдауы үшін ЖҚХ-скринингтің жалпы еріткіштер жүйесі ретінде гексан-ацетон-хлороформ (2:2:1) жылжымалы фазасы, ал детектрлеуші құрал ретінде УК-сәулесі ұсынылады. Осы аталған жүйеде неоникотиноидтардың бөлінуі оңтайлы болды, олардың R_f келесі мәндерді көрсетті: ацетамиприд үшін $0,45 \pm 0,03$; имидаклоприд үшін $0,55 \pm 0,03$; тиоклоприд үшін $0,63 \pm 0,03$; тиометаксам үшін $0,32 \pm 0,03$. Көрсетілген зерттеулер неоникотиноидтардың R_f мәндері жасалған әдістеменің тиімді, селективті, сезімтал екендігін дәлелдеді.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Еремена О.Ю., Лопатина Ю.В. Перспективы применения неоникотиноидов в сельском хозяйстве России и сопредельных стран // *Агрохимия*. – 2005. – № 6. – С. 87-93.
2. Рославцева С.А. Неоникотиноиды – новая перспективная группа инсектицидов // *Агрохимия*. – 2000. – № 1. – С. 49-52.
3. Петрова Т.М., Смирнова И.М., Волгарев С.А. Определение инсектицида тиаметоксама в растительном материале и почве // *Агрохимия*. – 2006. – № 4. – С. 84-89.
4. Huang Z., Zheng X., Zhao Y., Yang M. Определение имидаклоприда на стеклогле-родном электроде вольтамперометрическим методом // *J. Nanjing Agr. Univ.* – 2002. – V.25. – P. 110-112.
5. Wanatabe S., Ito S., Kamata Y., Omoda N., Yamazaki T., Munakata H., Kaneko T., Yuasa Y. Development of competitive enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) based on monoclonal antibodies for chloronicotinoid insecticides imidacloprid and acetamiprid // *Anal. Chim. Acta.* – 2001. – V.427. – P. 211-219.
6. Guand-Guo Y., Rai S. K. Simultaneous determination of imidacloprid, thiacloprid, and thiamethoxam in soil and water by high-performance liquid chromatography with diode-array detection // *J. Environ-Sci. and Health. B.* – 2004. – V.39. – P. 737-746.

Д. Алтынбек, А.Д. Серикбаева, С.К. Ордабаева

АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»,

Кафедра фармацевтической и токсикологической химии, г.Шымкент, Казахстан

ТСХ-СКРИНИНГ В АНАЛИЗЕ НЕОНИКОТИНОИДОВ ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ БИОМАТРИЦЫ

Резюме: Разработана методика ТСХ-скрининга для предварительного анализа неоникотиноидов, выделенных, из биоматрицы. В ходе эксперимента подобрана оптимальная подвижная фаза состоящая из гексан-ацетон-хлороформа (2:2:1). Чувствительным детектором для ацетамиприда, имидаклоприда, тиоклоприда, тиометаксама является УФ-свет.

Ключевые слова: неоникотиноиды, ацетамиприд, имидаклоприд, тиоклоприд, тиометаксам, тонкослойная хроматография, скрининг.

D. Altynbek, A.D. Serikbayeva, S.K. Ordabaeva

JSC "South Kazakhstan Medical Academy",

Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry Shymkent city, Kazakhstan

TLC-SCREENING IN THE ANALYSIS OF NEONICOTINOIDS ISOLATED FROM BIOMATRIX

Resume: A TLC-screening technique was developed for a preliminary analysis of neonicotinoids isolated from a biomatrix. During the experiment, the optimal mobile phase consisting of hexane-acetone-chloroform (2:2:1) was selected. UV-light is a sensitive detector for acetamipride, imidocloprid, thiacloprid, thiomethaxam.

Keywords: neonicotinoids, acetamipride, imidocloprid, thiacloprid, thiomethaxam, thin-layer chromatography, screening.