



УДК 543.393:547.495:1.340.67

ИЗОЛИРОВАНИЕ КАРБОФУРАНА ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

В.К. ШОРМАНОВ
С.Г. ГАЛУШКИН
Е.А. КОВАЛЕНКО

*Курский
государственный
медицинский
университет*

e-mail: r-wladimir@yandex.ru

Определены оптимальные условия изолирования карбофурана из растительного биологического материала системой растворителей этилацетат-ацетон в соотношении 1:1 и дана количественная оценка результатов изолирования.

Ключевые слова: карбофуран, изолирование, одуванчик лекарственный, ТСХ, спектрофотометрия.

Введение. Карбофуран (О-(2,3-дигидро-2,2-диметилбензофуранил-7)метилкарбамат) является системным инсектицидом с акарицидными и нематодицидными свойствами, применяется как действующее вещество для производства протравителей семян, а также гранулированных препаратов для борьбы с почвенными вредителями.

Карбофуран по физическим свойствам представляет собой белое кристаллическое вещество с температурой плавления 153-154°C. Хорошо растворим в ацетоне, ацетонитриле, растворим в этаноле, в воде плохо растворим. При нагревании со щелочами и кислотами быстро разлагается, спиртовыми растворами щелочей разрушается даже при комнатной температуре [1, 4, 5].

При заделке в почву усваивается корнями растений, перемещается во все части растений. Карбофуран разрешен только на технических культурах. Срок разложения – от нескольких месяцев и до года. Имеет ярко выраженную материальную и функциональную кумулятивность.

Карбофуран обладает значительной токсичностью для теплокровных организмов, проявляя антихолинэстеразное действие. LD₅₀ при пероральном введении для крыс составляет 8-14 мг/кг, для собак – 19 мг/кг, для мышей – 44 мг/кг. Описаны случаи отравления карбофураном, в том числе с летальным исходом [1, 6].

Отравления могут происходить при непосредственном контакте с веществом в процессе его производства, хранения и применения, вследствие аварий, в условиях загрязнения объектов окружающей среды отходами химических производств, выбросами в атмосферу и сточными водами предприятий, а также при суицидальных попытках [4, 6].

Широкое применение карбофурана, его высокая токсичность, наличие случаев летального отравления обуславливает необходимость изучения этого соединения в химико-токсикологическом отношении [2, 3, 7].

Целью данного исследования явилось изучение изолирования карбофурана из растительного биологического материала системой растворителей этилацетат-ацетон в соотношении 1:1, подбор оптимальных условий изолирования (объема изолирующего агента, времени и кратности настаивания).

Материалы и методы исследования. Объектом исследования явился карбофуран (О-(2,3-дигидро-2,2-диметилбензофуранил-7)метилкарбамат) фирмы «FMS Corporation» (США) с содержанием основного вещества не менее 99% (определено методом ГЖХ).

Изучали особенности изолирования карбофурана из растительного биологического материала системой растворителей этилацетат-ацетон в соотношении 1:1, предложенной ранее для изолирования данного соединения из биожидкостей [7].

Для этого готовили модельные смеси исследуемого вещества и мелкоизмельченных (размер частиц 0,2-0,5 мм) корней одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale*), которые выдерживали при 18-20°C в течение 1,5 часа после их приготовления. Осуществляли двукратное изолирование карбофурана при соотношении изолирующего агента и биологического материала 2:1 (по массе). Продолжительность каждого настаивания составляла 30 минут. Оба извлечения, полученные из каждой модельной смеси, объединяли, и часть объединенного извлечения наносили на пластины ВЭТСХ типа «Сорбфил» с люминесцентным индикатором и хроматографировали, используя подвижную фазу гексан-ацетон в соотношении 6:4 в присутствии вещества-свидетеля. На хроматограммах карбофуран обнаруживался в виде темно-бордового пятна на более светлом общем фоне пластины в УФ-свете. Значение R_f составляло 0,76±0,03. Элюирование карбофурана из

сорбента осуществляли этанолом. Количество анализируемого вещества определяли методом спектрофотометрии при аналитической длине волны равной 278 нм. Расчеты осуществляли по уравнению градуировочного графика.

С помощью описанной выше схемы изолирования, очистки и определения карбофурана исследовали зависимость величины степени извлечения рассматриваемого вещества из биологического материала от продолжительности контакта изолирующей жидкости с биологическим материалом, кратности настаивания и количественного соотношения изолирующего агента и биологической ткани.

Изучалась зависимость степени извлечения карбофурана системой растворителей этилацетат-ацетон в соотношении 1:1 от концентрации анализируемого соединения в биологическом объекте. В каждом случае 25,00 г мелкоизмельченных корней одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale*), содержащих определенное количество карбофурана (от 2,50 до 50,00 мг), заливали 50 г системы растворителей этилацетат-ацетон (1:1) и выдерживали в течение 30 минут при периодическом перемешивании. Извлечение сливали с твердого остатка, а процесс настаивания повторяли по описанной выше схеме. Отдельные извлечения объединяли и фильтровали. 0,3 мл полученного фильтрата наносили на хроматографическую пластину ВЭТСХ «Сорбфил» с люминесцентным индикатором в виде полосы и осуществляли хроматографирование в присутствии вещества-свидетеля в стеклянной камере объемом 600 см³, используя в качестве элюента систему растворителей гексан-ацетон (6:4). После окончания процесса хроматографирования хроматограмму высушивали и проявляли в УФ-свете. Участок хроматограммы с пятном анализируемого вещества вырезали и элюировали веществом 5 мл этанола в течение 15 минут. Оптическую плотность элюата измеряли на СФ-56 в кювете с толщиной рабочего слоя 10 мм при аналитической длине волны равной 278 нм. В качестве фона использовали элюат, полученный в контрольном опыте. Количественное содержание рассматриваемого вещества рассчитывали с помощью уравнения градуировочного графика.

Результаты исследования и их обсуждение. В данном случае уравнение градуировочного графика имело вид:

$$D = 0,01496 \cdot C - 0,00519,$$

где D – оптическая плотность; C – концентрация, мкг/мл.

Установлено, что максимальная степень извлечения карбофурана из растительного биологического материала системой этилацетат-ацетон (1:1) достигается при продолжительности настаивания не менее 30 минут (рис. 1).

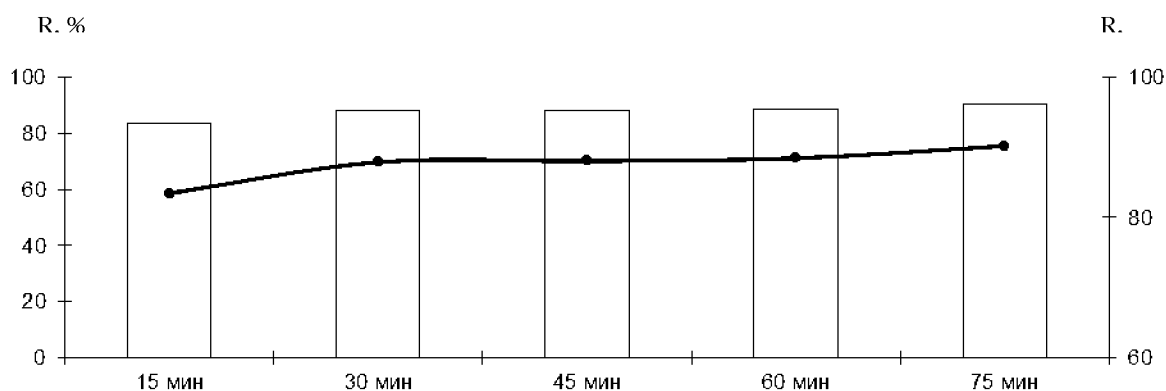


Рис. 1. Зависимость степени извлечения (R, %) карбофурана из растительного биологического материала от времени (двукратное изолирование системой этилацетат-ацетон (1:1), соотношение изолирующего агента и биологического материала 2:1 (по массе))

Исследование зависимости степени извлечения карбофурана от кратности настаивания показало, что для достаточно полного извлечения рассматриваемого вещества из растительного биологического материала необходимо двукратное настаивание биологического материала с изолирующим агентом при условии, что количество системы этилацетат-ацетон (1:1) в каждом случае должно превышать количество растительного биологического материала как минимум в 2 раза по массе (табл. 1).



Таблица 1

Зависимость степени извлечения (R, %) карбофурана из растительного биологического материала от соотношения количества биоматериала и системы этилацетат-ацетон (1:1) и от кратности настаивания (n=5)

Взято вещества, мг	Объем ацетона, мл	Кратность настаивания	Найдено вещества	
			мг	%
12,5	25	1	2,89	57,82
		2	0,88	17,63
		1+2	3,77	75,45
		3	0,55	11,03
		1+2+3	4,32	86,48
		4	0,27	5,34
		1+2+3+4	4,59	91,82
12,5	50	1	3,17	63,31
		2	1,23	24,56
		1+2	4,39	87,87
		3	0,30	5,96
		1+2+3	4,69	93,83
		4	0,20	4,08
		1+2+3+4	4,90	97,91
12,5	62,5	1	3,49	69,83
		2	0,94	18,73
		1+2	4,43	88,56
		3	0,28	5,72
		1+2+3	4,71	94,28
		4	0,19	3,84
		1+2+3+4	4,93	98,12
12,5	75	1	3,49	69,82
		2	0,96	19,25
		1+2	4,45	89,07
		3	0,27	5,42
		1+2+3	4,72	94,50
		4	0,20	3,87
		1+2+3+4	4,94	98,37
12,5	100	1	3,65	73,00
		2	0,83	16,61
		1+2	4,48	89,60
		3	0,28	5,70
		1+2+3	4,77	95,30
		4	0,15	3,46
		1+2+3+4	4,95	98,76

Как свидетельствуют данные эксперимента, представленные в табл. 2, увеличение содержания карбофурана в модельных смесях в достаточно широком интервале концентраций (2,50-50,00 мг) при постоянной массе навески корней одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale*) (25,00 г) сопровождается лишь незначительным изменением значений степени извлечения, не превышающим 1,2%. Это обстоятельство позволяет предположить, что взаимодействие молекул карбофурана со структурными элементами растительных тканей не приводит к образованию достаточно прочных связей.

Использование в качестве изолирующего агента системы растворителей этилацетат-ацетон в соотношении 1:1 и предложенные условия изолирования позволяют достичь достаточно высокой степени извлечения анализируемого вещества из мелкоизмельченных корней одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale*). Открываемый минимум составляет 1 мг карбофурана в 100 г биологического материала. Предложенная методика достаточно хорошо воспроизводима, отличается простотой выполнения, не требует применения сложной аппаратуры и значительных затрат времени на воспроизведение. Она может быть использована при оценке качества лекарственного растительного сырья.



Таблица 2

Зависимость степени извлечения (R, %) карбофурана из растительного биологического материала от количества карбофурана и биологического материала (по массе) (n = 5; P = 0,95)

Внесено нимесулида, мг в 25 г биоматериала	Найдено, %			
	\bar{X}	S	S _x	$\Delta \bar{X}$
50,0	88,06	1,93	0,86	2,40
25,0	87,75	2,01	0,90	2,50
12,5	87,51	2,20	0,98	2,73
5,0	87,13	2,41	1,08	2,99
2,5	86,92	2,59	1,16	3,22

Выводы:

1. Изучена возможность и определены оптимальные условия изолирования карбофурана из биологического материала растительного происхождения системой растворителей этилацетат-ацетон (1:1).
2. Дана количественная оценка изолирования рассматриваемого вещества из модельных смесей с мелкоизмельченными корнями одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale*) в предлагаемых оптимальных условиях.

Литература

1. Изолирование карбофурана из биологического материала, его идентификация и количественное определение / Р.Г.Мансурова, Н.В.Кубасова, В.В.Попкова, Ф.Г.Юсупова // Актуальные вопросы судебной медицины и права. – Казань, 2010. – Вып. 1. – 282 с.
2. Клисенко, М.А. Определение остаточных количеств пестицидов / М.А. Клисенко, Л.Г. Александрова. – Киев : Здоровье, 1983. – 284 с.
3. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде / под ред. М.А. Клисенко. – М. : Колос, 1992. – Т. 1. – 566 с.
4. Мельников, Н.Н. Справочник по пестицидам / Н.Н. Мельников, К.В. Новожилов, С.Р. Белан, Т. Н. Пылова. – М. : Химия, 1985. – 52 с.
5. Справочник по пестицидам / под ред. проф. А.В. Павлова. – Киев : Здоровье, 1986. – 131 с.
6. Шорманов, В.К. Судебно-химическое определение фурадана / В.К. Шорманов, В.П. Иванов, В.А. Королев, С.В. Маслов и др. // Судебно-медицинская экспертиза. – 2005. – Т. 48, № 3. – С. 27-31.
7. Шорманов, В.К. Определение фурадана в биологических жидкостях / В.К. Шорманов, Е.А. Коваленко, Е.П. Дурицын // Судебно-медицинская экспертиза. – 2005. – Т. 48, № 5. – С. 36-39.

CARBOFURAN ISOLATION FROM A VEGETATIVE BIOLOGICAL MATERIAL

**V.K. SHORMANOV
S.G. GALUSHKIN
E.A. KOVALENKO**

*Kursk state medical university
e-mail: r-wladimir@yandex.ru*

The optimum conditions of carbofuran isolation from a vegetative biological material by system of ethyl acetate -acetone solvents in the ratio 1:1 were defined and the quantitative assessment of isolation results was given.

Keywords: carbofuran, isolation, dandelion medicinal, TLC, spectrophotometry.