

VÝVOJ METÓDY IZOLÁCIE VYBRANEJ SKUPINY PESTICÍDOV Z PÔDY PRIETOKOVOU EXTRAKCIOU Z TUHEJ VZORKY PRED HPLC ANALÝZOU

MÁRIA CHALÁNYOVÁ^a, IVANA PROCHÁZKOVÁ^b
a MILAN HUTTA^a

^a Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta,
Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina
CH-2, 842 15 Bratislava, ^b Slovenský hydrometeorologický
ústav, Jeséniova 17, 833 15 Bratislava
chalanyova@fns.uniba.sk

Došlo 19.10.11, prepracované 27.4.12, prijaté 24.5.12.

Kľúčové slová: prietoková extrakcia z tuhej vzorky, pesti-
cídy, pôda, HPLC

Úvod

Znečistenie zložiek životného prostredia (najmä pôdy) pesticídmi a ich degradačnými produktami je i v súčasnosti nielen ekologickým, ale aj analytickým problémom. Pesticídy sú špecifickou skupinou chemikálií, ktoré okrem želaných efektov môžu ohrozovať ľudské zdravie i všetky zložky životného prostredia¹. Ich výskyt v pôde je predurčený nielen ich cieľným a plánovaným použitím (herbicídy), ale aj neplánovaným použitím pri reagovaní na náhlu potrebu ochrany úrody, statku a ľudí (insekticídy). Z uvedeného vyplýva potreba vývoja nových metód úpravy vzoriek a analytických metód pre mnoho-zložkovú stopovú analýzu pesticídov a pomocných látok, ktoré majú rôzne zastúpenie v zmesiach prirodzene kontaminujúcich pôdu počas dlhodobej ochrany statkov. Nami študované pesticídy podľa použitia patria do skupiny herbicídov a insekticídy.

Herbicídy (atrazín, simazín, propazín, terbutrín a metoxuron) sa používajú na ničenie burín. Cloquintocet-mexyl patrí medzi herbicídne safenery². „Safener“ (tiež antidotum, synergent alebo ochranná látka) je prídavná látka k herbicídom, ktorá selektívne ochraňuje úžitkovú rastlinu pred jej poškodením herbicídom bez zníženia jeho herbicídneho účinku na cieľovú burinu^{2,3}. Z literárneho prehľadu vyplýva, že medzi najčastejšie stanovované herbicídy i v súčasnosti patrí atrazín, a to aj napriek tomu, že na základe rozhodnutia Európskej komisie č. 2004/248/EC je atrazín od 1. augusta 2005 zaradený na listinu zakázaných pesticídov⁴. Systematickým štúdiom jeho vlastností sa zistilo, že jeho rýchle vstrebávanie sa do tráviaceho i dýchacieho traktu spôsobuje vážne zdravotné problémy u ľudskej populácie⁵. Vzhľadom na nadbytočné skladové

zásoby a nie vždy zodpovedné správanie sa užívateľov je neustála potreba monitorovania dodržiavania zákazu jeho používania nielen u nás, ale hlavne v rozvojových krajinách, kde sa ešte niektorí producenti pokúšajú umiestniť tento produkt na trhu. Zároveň je snaha využívať v agrotechnologickej praxi pôdohospodárstva pozitívne vlastnosti ďalších triazínových herbicídov.

Insekticídy sú prípravky určené na hubenie hmyzu v jeho rôznych vývojových štádiách⁶. Do tejto skupiny patria i syntetické pyretróidy (cypermetrín a permetrín), ktoré sa radia medzi široko používané účinné insekticídy. V minulosti sa predpokladalo, že sú málo toxické voči cicavcom, čo sa pripisovalo obmedzenej absorpcii niektorých pyretróidov a ich rýchlej biodegradácii pečeňovými enzýmami⁷. Zo systematického štúdia ich vlastností vyplynuli závery, že nielen dlhodobé vystavenie ľudského organizmu účinkom pyretróidov, ale i jeho vdýchnutie môže spôsobiť nežiadúce zdravotné poruchy^{8,9}. U niektorých pyretróidov sa objavilo podozrenie z karcinogenity¹⁰.

Zložitosť problematiky analýzy reziduí pesticídov v komplexných maticiach na stopovej až ultrastopovej koncentračnej úrovni vyplýva z rôznorodosti ich fyzikálno-chemických vlastností. Komplexné matrice môžu spôsobovať problémy pri stanovení analytov na nízkych koncentračných úrovniach^{11,12}, preto sa vzorka pred analytickou koncovkou podrobuje úprave¹³, ktorá zahŕňa kroky, ako je izolácia, koncentrovanie a čistenie analytov¹⁴. Úprava vzorky je obvykle časovo náročným a najkritickejším krokom celej analýzy¹⁴. Z tohto pohľadu predstavuje izolácia pesticídov z pôd komplexný analytický problém.

Základom úspešnej analytickej metódy stanovenia reziduí pesticídov je selektívna izolačná technika schopná izolácie analytov s výťažnosťou blížiacou sa 100 % s minimálnym množstvom koextrahovaných látok z matrice¹⁵. Nevýhody extrakčných techník, ako je Soxhletova extrakcia a extrakcia v systéme kvapalina–kvapalina, u ktorých je vysoká spotreba organických rozpúšťadiel a časová náročnosť, viedli k vývoju takých nových metód úpravy vzoriek ako sú extrakcia tuhou fázou (SPE), disperzia matrice na tuhej fáze (MSPD), mikrovlnová extrakcia (MAE) a ďalšie, kde hlavnými výhodami sú rýchlosť a menšia spotreba použitých rozpúšťadiel^{16–18}. Z prehľadu literatúry za posledné obdobie vyplýva, že najčastejšie používanou úpravnou technikou pred HPLC analýzou je extrakcia tuhou fázou^{19–26}. Pre stanovenie pesticídov v komplexnej matrici, ako je pôda, ktorá pozostáva z anorganických zložky (napríklad hliníto-kremičitanov) a organickej zložky (pozostávajúcej z humínových kyselín, fulvokyselín a nerozpustných humátov), treba použiť vysokocitlivé analytické metódy poskytujúce nízke medze dôkazu a stanovenia spojené s účinnými úpravnými technikami¹⁵. Uvedené dôvody vedú k snahe vyvíjať nové postupy izolácie a zakoncentrovania analytov pred analytickou koncovkou.

Cieľom práce je izolácia vybranej skupiny pesticídov z pôdy technikou prietokovej extrakcie z tuhej vzorky (flow-through solid sample extraction, FTSSE) s vysokou výťažnosťou analytov a s minimálnymi koncentraciami koextraktov (hlavne humínových látok – humínových ky-

selín a fulvokyselín)^{27,28} pred RP-HPLC analýzou.

Vedecký cieľ tejto práce je možné definovať ako vývoj RP-HPLC-UV/VIS metódy na stopovú mikroanalýzu vybranej skupiny pesticídov vo vzorkách pôd s hmotnosťou 1,0 g založenú na prietokovej extrakcii analytov. Jedná sa o prácu zameranú na výskum a rozšírenie aplikácií kombinujúcich extrakciu z tuhej fázy v chromatografickom systéme spôsobom popisateľným slovným spojením „dávkovanie tuhej vzorky v HPLC“³⁰.

Experimentálna časť

Chemikálie

Štandardy analyzovaných látok:

atrazín: 6-chlór-*N*²-etyl-*N*⁴-izopropyl-1,3,5-triazín-2,4-diamín (99,5 %, Novartis, Švajčiarsko),

simazín: 6-chlór-*N,N'*-dietyl-1,3,5-triazín-2,4-diamín (98 %, VÚCHT, Bratislava, SR),

propazin: 6-chlór-*N*²,*N*⁴-diizopropyl-1,3,5-triazín-2,4-diamín (98 %, VÚCHT, Bratislava, SR),

terbutrín: *N*²-*tert*-butyl-*N*⁴-etyl-6-metyltio-1,3,5-triazín-2,4-diamín (98 %, VÚCHT, Bratislava, SR),

metoxuron: 3-(3-chlór-4-metoxifenyl)-1,1-dimetylmočovina (99,4 %, Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Nemecko),

cloquintocet-mexyl: (*RS*)-1-metylhexyl (5-chlórchinolín-8-yloxy)octan (99,5 %, Ciba Geigy, Ltd. Švajčiarsko),

cypermetrín: (*RS*)- α -kyano-3-fenoxybenzyl

(*1RS,3RS;1RS,3SR*)-3-(2,2-dichlórvinyl)-2,2-dimetylcyklopropánkarboxylát (95,8 %, Riedel-de Haën, Nemecko),

permetrín: 3-fenoxybenzyl(*1RS,3RS;1RS,3SR*)-3-(2,2-dichlórvinyl)-2,2-dimetylcyklopropánkarboxylát (97,3 %, Riedel-de Haën, Nemecko).

silikagél L 40/100: (Lachema, Brno, ČR),

metanol: gradient grade (99,9 %, Merck, Darmstadt, Nemecko),

ultračistá H₂O: čistiaci systém Labconco (Water, Pro-PS, Labconco, Cansas City, USA),

hydrogénfosforečnan disodný: Na₂HPO₄ p.a., (LaChema Brno, ČR),

citrónová kyselina: C₆H₈O₇ p.a., (LaChema Brno, ČR),

syntetický vzduch 5,0: (99,999 %, Messer tatragas, SR).

Zásobné roztoky štandardov boli pripravené v metanole gradient grade (99,9 %). Ostatné roztoky štandardov boli pripravené riedením zásobných roztokov.

Prístroje

Extraktory boli analyzované vysokoúčinnou kvapalínovou chromatografiou HPLC na zariadení LiChrograph (Merck-HITACHI, Darmstadt, Nemecko), ktorý pozostáva z pumpy Model L-6200A a UV-VIS detektora Model L-4250 (oboje Merck-HITACHI, Darmstadt, Nemecko). Na analýzu extraktov bola použitá analytická kolóna Purospher Star RP 18e (50×4 mm, I.D., 3 μ m), (Merck, Darmstadt, Nemecko). Pri FTSSE bola použitá vysokotlaková pumpa HPLC Pump 64 (Knauer, Nemecko). Chromatogra-

fické podmienky: gradientová elúcia lineárnym gradientom z počiatočného zloženia mobilnej fázy metanol:voda pH 5,5 (50:50, v/v) za 35 min do 100 % metanolu, prietok mobilnej fázy 0,5 ml min⁻¹, vlnová dĺžka 235 nm.

Príprava vzorky pôdy na analýzu

Vzorka pôdy s prídavkom štandardov analytov (kontaminovaná vzorka pôdy)

10,0 g vzorky pôdy (MP-20, Bratislava časť Lieskovec, fluvizem z karbonátových aluviálnych sedimentov 1. horizont; N-2-LM, Liptovský Mikuláš časť Veterná Poruba, hnedozem, 1. horizont a N-17-DS, Dunajská Streda časť Vydrany, nivná pôda karbonátová, 1. horizont) bolo zmočených 10,0 ml metanolu. Zmočená pôda bola kontaminovaná štandardami študovaných pesticídov na koncentračnej úrovni 2,5 μ g g⁻¹ suchej pôdy. Vzorky pôdy boli sušené v tme pri laboratórnej teplote 4 dni. Homogenizované kontaminované vzorky boli uchovávané v tmavých prachovniciach pri izbovej teplote.

Nekontaminovaná vzorka pôdy

10,0 g pôdy (MP-20, N-2-LM, N-17-DS) bolo zmočených 10,0 ml metanolu. Pôda bola sušená v tme pri laboratórnej teplote 4 dni. Homogenizované vzorky pôdy boli uchovávané v tmavých prachovniciach pri izbovej teplote.

Príprava vzorky pôdy pre prietokovú extrakciu

Do prázdnej sklenenej kolóny s rozmermi 150×3 mm CGC (compact glass column, Tessek a.s., Praha, ČR) na vrstvu Silikagélu L 40/100 o hmotnosti 0,2 g bol poklepkávaním za sucha nanosený 1,0 g vzorky nekontaminovanej alebo kontaminovanej pôdy. Priestor nad stĺpcom vzorky bol vyplnený sklenenými guľičkami a kolóna bola uzavretá.

Prietoková extrakcia z tuhej vzorky

Pri kontinuálnej extrakcii analytov zo stĺpca vzorky pôdy extrakčným činidlom (100% metanol) boli uskutočnené experimenty:

A) s kontaminovanou vzorkou pôdy na koncentračnej úrovni 2,5 μ g g⁻¹ pôdy

Analyty boli extrahované metanolom prietokovou rýchlosťou 0,3 a 0,5 ml min⁻¹ do extraktu s objemom 3,0 ml.

B) s nekontaminovanou vzorkou pôdy

3 ml extraktu získané prietokovou rýchlosťou 0,3 ml min⁻¹ boli kontaminované so zmesou štandardov na koncentračnej úrovni zodpovedajúcej koncentráciám analytov v kontaminovanej vzorke pôdy na úrovni 2,5 μ g g⁻¹.

Metanolicke extrakty získané podľa postupu A) či B) s objemom 3,0 ml boli odparené prúdom vzduchu na objem 0,5 ml. Odparok bol zriedený na objem 1,0 ml tak, aby zloženie roztoku, v ktorom sa analyt dával do HPLC systému, bol podobný ako počiatočné zloženie mobilnej fázy.

Roztoky pre meranie kalibračných závislostí boli pripravené v zmesi metanol:voda (50:50 v/v). Uvedené

zloženie zodpovedá počiatočnému zloženiu mobilnej fázy pre gradientovú elúciu. Namerané údaje boli vyhodnotené programom CSW verzia 1.0, s 20 bitovým integračným Sigma Delta A/D prevodníkom, DataApex s. r. o., Praha, ČR. Účinnosť extrakcie študovaných pesticídov bola vyhodnotená na kalibračné závislosti štandardov pesticídov. Kalibračné závislosti analytov v rozmedzí koncentrácií 0,25–5,0 $\mu\text{g ml}^{-1}$ boli vyhodnotené v programe Microsoft Office Excel a AdStat, TriloByte verzia 1.20, Pardubice, ČR.

Výsledky a diskusia

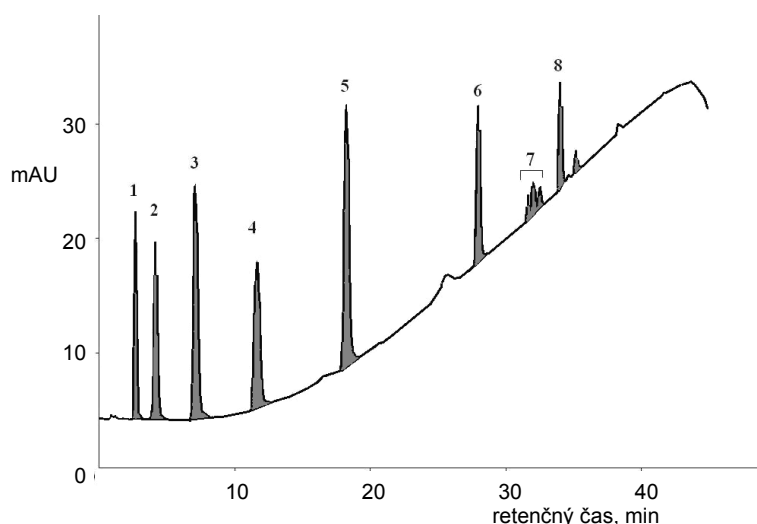
Podmienky HPLC analýzy

Dôležitým krokom pri vývoji chromatografickej metódy je výber vhodného zloženia mobilnej fázy. Zo skúmania vplyvu obsahu organického modifikátora a pH mobilnej fázy na retenciu analytov vyplynulo, že optimálna separácia štandardov pesticídov na analytickej kolóne Purospher Star RP 18e s prietokovou rýchlosťou mobilnej fázy 0,5 ml min^{-1} bola dosiahnutá v gradientovom móde s prechodom z východiskového zloženia mobilnej fázy metanol:voda pH 5,5 (50:50 v/v) do 100 % metanolu za 35 min. Na obr. 1 je chromatografický záznam RP-HPLC analýzy štandardov pesticídov, z ktorých cypermetrín a permetrín patria do skupiny syntetických pyretroidov a majú chirálne vlastnosti. Cypermetrín má vo svojej molekule tri chirálne centrá a tvorí osem enantiomérov. V reverznofázovom systéme sa separuje na tri čiastočne separované píky a jeho signál bol vyhodnotený zo skupiny chromatografických píkov. Permetrín má dve chirálne

centrá a tvorí štyri enantioméry. Na achirálny kolóne Purospher Star RP 18e sa separuje na *trans*- a *cis*-izomér. Pomer *trans*- a *cis*-izomérov permetrínu je 75,5:21,8 % (m/m). *Cis*-permetrín poskytoval nízku odozvu, preto na všetkých chromatografických záznamoch bol vyhodnotený len signál *trans*-permetrínu. Detekčné limity boli vypočítané z pásov spoľahlivosti (95% interval spoľahlivosti) kalibračnej čiary podľa autorov Habaux a Vos²⁹ a pohybujú v rozmedzí 31–87 ng ml^{-1} s korelačnými koeficientami v rozmedzí 0,996–0,999. Hodnoty účinnosti extrakcie analytov z troch druhov pôd v tabuľke I–III sú priemernými hodnotami z troch paralelných experimentov.

Vplyv typu a hmotnosti sorbentu na dne kolóny a objemu extraktu na účinnosť extrakcie

Ak vychádzame zo skutočnosti, že analytická metóda stanovenia reziduí pesticídov v komplexnej matici má byť úspešná, potom musíme zvoliť také podmienky úpravy, ktorej produktom je vzorka s vysokou koncentráciou študovaných analytov s minimálnym množstvom koextraktov^{27,28}. Z tohto pohľadu sa optimálnym extrakčným činidlom javí metanol. Skupina študovaných analytov je dobre rozpustná v metanole. Humínové látky, ktoré sú prirodzenou súčasťou pôdy, sa v metanole rozpúšťajú len obmedzene. Pri aplikácii prietokovej extrakcie analytov zo vzorky pôdy metanolom sme konfrontovaní s potrebou zachytenia niektorých koextrahovaných zložiek vzorky a tiež s potrebou zachytenia pôdnych častíc a koloidov. Pre tento účel je riešením umiestnenie vhodného sorbentu na dno kolóny so vzorkou. Pri výbere typu sorbentu sme vychádzali z práce Chalányová a spol.³¹ ktorá sa zaoberá optimalizáciou výberu typu sorbentu na dno koló-



Obr. 1. Chromatografický záznam zmesi štandardov; experimentálne podmienky: analytická kolóna Purospher Star RP 18e (50×4 mm, I.D., 3 μm), gradientová elúcia z mobilnej fázy metanol:voda pH 5,5 (50:50, v/v) za 35 min do 100% metanolu, s prietokom 0,5 ml min^{-1} , $\lambda=235$ nm, dávkovaný objem 20 μl , pH 5,5; 1 – metoxuron, 2 – simazín, 3 – atrazín, 4 – propazín, 5 – terbutrín, 6 – cloquintocet-mexyl, 7 – cypermetrín, 8 – *trans*-permetrín

Tabuľka I

Závislosť účinnosti extrakcie pôdy MP-20 s prídavkom štandardov pesticídov s koncentráciou $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$ pôdy od prietoku extračného činidla cez stĺpec vzorky pôdy^a

Pôda	Výťažnosť %	
	MP-20	
Rýchlosť extr. činidla	0,5 ml min ⁻¹	0,3 ml min ⁻¹
Metoxuron	68,3	73,3
Simazín	68,2	81,6
Atrazín	66,1	81,1
Propazín	66,0	81,8
Terbutrín	66,9	83,5
Cloquintocet-mexyl	68,5	84,3
Cypermetrín	48,9	51,1
Permetrín	45,7	52,8

^a Experimentálne podmienky: viď obr. 1; $V_{\text{extraktu}} = 3 \text{ ml}$; $V_{\text{odparku}} = 0,5 \text{ ml}$; konečný objem vzorky pred HPLC analýzou $V_{\text{vzorky}} = 1 \text{ ml}$

ny so vzorkou pôdy kontaminovanej trojicou pyretroidov kadetrín, cypermetrín a permetrín. Z experimentov vyplynulo, že zo skúmaných sorbentov oxid hlinitý LS 5/4, Separon SGX NH₂ a silikagél L 40-100 najväčšia čistiaca schopnosť a najvyššie účinnosti extrakcie sa dosiahli pri použití sorbentu silikagél L 40/100. Sorbent na dne kolóny so vzorkou pôdy má ďalšiu výhodu v tom, že zabráňuje upchatiu sitka na výstupe z kolóny a získaný extrakt je číry.

Z testovania pomeru hmotnosti sorbentu silikagél L 40/100 (0,05 g; 0,15 g; a 0,20 g) ku hmotnosti 1,0 g vzorky pôdy MP-20 vyplynulo, že najväčší podiel koextraktov z matrice sa zachytí pri použití 0,2 g silikagélu L 40/100 na dne kolóny s 1,0 g vzorky pôdy.

Z testovania objemu extraktu 2,0; 2,5 a 3,0 ml, získanej kontinuálnou prietokovou extrakciou analytov z tuhej vzorky pôdy s prietokovou rýchlosťou $0,5 \text{ ml min}^{-1}$ cez analyzovaný stĺpec 1,0 g vzorky pôdy sme dospeli k záveru, že najvyššie účinnosti extrakcie boli dosiahnuté pre objem extraktu 3,0 ml s odparením na objem odparku 0,5 ml a jeho doriedením pred HPLC analýzou na objem 1,0 ml tak, aby zloženie roztoku, v ktorom sa analyt dávkoval do HPLC systému, bolo podobné ako počiatočné zloženie mobilnej fázy.

Vplyv prietoku extračného činidla na účinnosť extrakcie

Zníženie prietokovej rýchlosti extračného činidla z $0,5$ na $0,3 \text{ ml min}^{-1}$ má za následok spomalenie jeho toku

cez stĺpec vzorky pôdy, čím sa vytvorí časový priestor pre ustáľovanie rovnováhy medzi analytom a extračným činidlom. Tento krok má priaznivý vplyv na účinnosť extrakcie, čo potvrdzuje práca autorov Chalányová a spol.³⁰, kde bol študovaný vplyv prietoku extračného činidla na účinnosť extrakcie pyretroidov z pôdnej matrice. Účinnosti extrakcie pre vybranú skupinu ôsmich pesticídov v extrakte kontaminovanej vzorky pôdy MP-20 na koncentračnej úrovni $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$ s prietokom extračného činidla $0,5$ a $0,3 \text{ ml min}^{-1}$ sú v tab. I. Z výsledkov vyplýva, že pri kontinuálnej prietokovej extrakcii analytov z tuhej vzorky pôdy extračným činidlom 100% metanol s prietokovou rýchlosťou $0,3 \text{ ml min}^{-1}$ v porovnaní s $0,5 \text{ ml min}^{-1}$ sú účinnosti extrakcie vyššie o 5–20 %. Tieto rozdiely vyplývajú zo skutočnosti, že doba kontaktu extračného činidla so vzorkou pôdy pri prietoku $0,3 \text{ ml min}^{-1}$ je o 40 % dlhšia v porovnaní s prietokovou rýchlosťou $0,5 \text{ ml min}^{-1}$. Účinnosti extrakcie analytov pri desorpcii prietokovou rýchlosťou $0,5 \text{ ml min}^{-1}$ nadobúdajú hodnoty v rozmedzí 45 až 68 % a pri $0,3 \text{ ml min}^{-1}$ sa pohybujú v rozmedzí 61–84 %.

Účinnosť extrakcie z rôznych druhov pôd

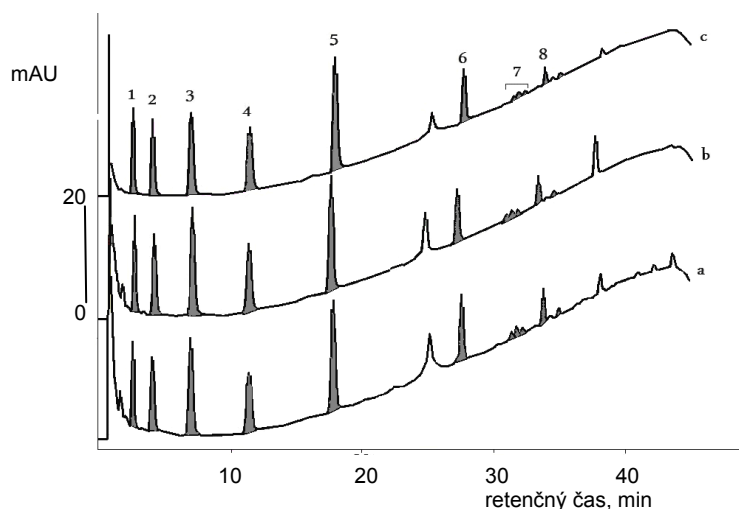
Za účelom overenia širšej možnosti použitia prietokovej extrakcie analytov z tuhej vzorky pôd technikou FTSSE z rôznych lokalít Slovenska bol pracovný postup aplikovaný okrem pôdy MP-20 z Bratislavy, časť Lieskovec na ďalšie dve pôdy z oblasti Liptovského Mikuláša N-2-LM a Dunajskej Stredy N-17-DS. Ak porovnáme účinnosť pre jednotlivé analyty po prídavku štandardov do nekontaminovaného extraktu pôdy (tab. II a III, stĺpec A)

Tabuľka II

Účinnosť extrakcie nekontaminovanej a kontaminovanej vzorky pôdy MP-20^a

Pôda	Výťažnosť %	
	MP-20	
Analyt	a	b
Metoxuron	105,1 ± 1,8	73,3 ± 2,4
Simazín	105,5 ± 2,0	81,6 ± 2,4
Atrazín	102,4 ± 2,8	81,1 ± 3,2
Propazín	103,9 ± 2,5	81,8 ± 2,8
Terbutrín	98,6 ± 1,3	83,5 ± 1,8
Cloquintocet-mexyl	91,6 ± 0,9	84,3 ± 1,4
Cypermetrín	62,6 ± 2,4	51,1 ± 3,2
Permetrín	62,8 ± 2,1	52,8 ± 3,3

^a Experimentálne podmienky: viď obr. 1. Extračné činidlo 100% metanol, rýchlosť extračného činidla $0,3 \text{ ml min}^{-1}$; a – prídavok štandardov pesticídov do extraktu nekontaminovanej pôdy na úrovni $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$; b – koncentrácia analytov v pôde $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$; $V_{\text{extraktu}} = 3 \text{ ml}$; $V_{\text{odparku}} = 0,5 \text{ ml}$; konečný objem vzorky $V_{\text{vzorky}} = 1 \text{ ml}$



Obr. 2. Chromatografické záznamy RP-HPLC analýzy pôd po prietokovej extrakcii z tuhej vzorky pôdy; experimentálne podmienky: viď obr. 1. Extrakčné činidlo 100% metanol, rýchlosť extrakčného činidla $0,3 \text{ ml min}^{-1}$; koncentrácia analytov v pôde $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$; $V_{\text{extraktu}} = 3 \text{ ml}$; $V_{\text{odparku}} = 0,5 \text{ ml}$; konečný objem vzorky $V_{\text{vzorky}} = 1 \text{ ml}$; pôdy: a – MP-20, b – N-17-DS, c – N-2-LM

Tabuľka III

Účinnosť extrakcie nekontaminovanej a kontaminovanej vzorky pôdy N-2-LM a N-17-DS^a

Pôda Analyt	Výtťažnosť %			
	Pôda N2-LM		Pôda N-17-DS	
	a	b	a	b
Metoxuron	111,2 ± 2,3	70,6 ± 3,8	103,7 ± 0,6	80,2 ± 1,5
Simazín	113,4 ± 2,5	81,3 ± 3,9	107,8 ± 0,7	87,3 ± 1,7
Atrazín	111,9 ± 2,8	80,9 ± 4,2	104,5 ± 1,0	85,8 ± 1,3
Propazín	113,0 ± 1,7	84,8 ± 4,1	104,8 ± 0,8	86,7 ± 2,2
Terbutrín	109,6 ± 1,9	86,0 ± 4,3	100,1 ± 1,2	82,7 ± 2,6
Cloquintocet-mexyl	95,0 ± 1,0	79,5 ± 1,9	89,5 ± 0,2	67,9 ± 0,6
Cypermetrín	58,8 ± 4,6	43,7 ± 5,2	65,6 ± 3,2	56,6 ± 4,1
Permetrín	53,3 ± 3,9	40,5 ± 6,8	61,2 ± 2,6	54,2 ± 4,3

^a Experimentálne podmienky: viď obr. 1. Extrakčné činidlo 100% metanol, rýchlosť extrakčného činidla $0,3 \text{ ml min}^{-1}$; a – prídavok štandardov pesticídov do extraktu nekontaminovanej pôdy na úrovni $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$; b – koncentrácia analytov v pôde $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$; $V_{\text{extraktu}} = 3 \text{ ml}$; $V_{\text{odparku}} = 0,5 \text{ ml}$; konečný objem vzorky $V_{\text{vzorky}} = 1 \text{ ml}$

s účinnosťami extrakcie analytov z kontaminovanej vzorky pôdy (stĺpec B), potom rozdiely v týchto hodnotách odzrkadľujú mieru ireverzibilnej sorpcie analytov na pôdnu maticu ako i straty analytu v priebehu kroku úpravy vzorky.

Účinnosť pre prídavok zmesného štandardu s výnimkou pyreteroidov (cypermetrínu a permetrínu) do extraktu z nekontaminovanej vzorky pôd MP-20, N-2-LM a N-17-DS (tab. II a III, stĺpec A) sa pohybuje v rozmedzí 81 až 103 %.

Účinnosti extrakcie pre tri typy vzoriek pôd MP-20, N-2-LM a N-17-DS pre koncentračnú úroveň analytov $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$ pôdy sú zhrnuté tab. II a III, stĺpec B. Účinnosti extrakcie z kontaminovanej vzorky pôdy nadobúdajú hodnoty v rozmedzí 68–87 %.

Chromatografické záznamy extraktov kontaminovanej pôdnej vzorky MP-20, N-2-LM, N-17-DS s koncentraciou analytov $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$ pôdy a k nim prislúchajúce slepé

pokusy sú na obr. 2.

Z tab. II a III vyplýva, že účinnosť extrakcie pre prípravok študovaných insekticídov zo skupiny pyretroidov (cypermetrín a permetrín) do 3,0 ml extraktu nekontaminovanej vzorky pôdy po odparení extraktu na objem 0,5 ml a doplnení na objem 1,0 ml sa pohybuje v rozmedzí 48–60 %. Účinnosti extrakcie dvojice pyretroidov z troch rôznych druhov pôd (MP-20, N-2-LM a N-17-DS) kontaminovaných na koncentračnej úrovni $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$ pôdy sa pohybuje v rozmedzí 40–57 %. Príčinou nízkej účinnosti extrakcie insekticídov zo skupiny pyretroidov v porovnaní so skupinou šiestich herbicídov je skutočnosť, že v priebehu redukcie objemu extraktu odparením pravdepodobne dochádza k strhávaniu pár cypermetrínu a permetrínu prúdom vzduchu. Redukcia objemu extraktu odparením prúdom vzduchu pri bežnej teplote neovplyvňuje signál študovaných herbicídov.

Záver

Práca je zameraná na nájdenie optimálnych extrakčných parametrov pred HPLC analýzou vybranej skupiny pesticídov z troch druhov slovenských pôd. Bol študovaný vplyv množstva sorbentu na dno kolóny so vzorkou pôdy, prietokovej rýchlosti extrakčného činidla technikou prietokovej extrakcie z tuhej vzorky FTSSE a objemu extraktu na účinnosť extrakcie skupiny študovaných analytov. Výhodou tejto techniky je, že pri optimálnom výbere vhodného sorbentu na dno kolóny s tuhou vzorkou koncentrovania a čistenie analytov prebieha v jednom kroku.

Pri úprave vzorky pôdy metódou FTSSE je vhodné na dno kolóny použiť vrstvu sorbentu Silikagél L-40/100 s hmotnosťou 0,2 g. Takto získaný extrakt je číry a nie je potrebné ho pred ďalšími krokmi úpravy vzorky filtrovať alebo centrifugovať. Ďalšou výhodou tohoto prístupu vzorkovania je, že umožňuje automatizáciu t.j. on-line izoláciu, zakoncentrovania a následnú analýzu pesticídov na nízkych koncentračných úrovniach z mikrovzoriek ($100\text{--}200 \text{ mg}$) pôd³⁰, pričom sa vylúčia problémy súvisiace so stratou analytov v dôsledku prchania pri redukcii objemu vzorky.

Vzorky troch druhov slovenských pôd (MP-20, N-2-LM a N-17-DS) boli kontaminované na koncentračnú úroveň $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$ pôdy. Pre prietokovú extrakciu analytov z tuhej vzorky o hmotnosti 1,0 g 100% metanolom sa ako optimálna javí prietoková rýchlosť extrakčného činidla $0,3 \text{ ml min}^{-1}$, objem extraktu 3,0 ml, redukcia jeho objemu prúdom vzduchu na 0,5 ml a doplnenie objemu vzorky na 1,0 ml pred HPLC analýzou.

Z nameraných výsledkov vyplýva, že pre tri druhy pôd MP-20, N-2-LM a N-17-DS kontaminovaných na koncentračnej úrovni $2,5 \mu\text{g g}^{-1}$ pôdy sa účinnosti extrakcie šiestich študovaných herbicídov pohybujú v rozmedzí 68–87 %, pričom účinnosti extrakcie herbicídov nevykazujú významné rozdiely v závislosti od typu pôdnej vzorky. Následkom strhávania pár cypermetrínu a permetrínu v priebehu redukcie objemu extraktu prúdom vzduchu

dochádza k stratám analytov. Účinnosť extrakcie insekticídov zo skupiny pyretroidov (cypermetrín, permetrín) sa pohybuje v rozmedzí 40–57 %. Detekčné limity študovaných pesticídov sa pohybovali v rozmedzí 31–87 ng ml^{-1} dávkovaného roztoku zmesi analytov.

Práca vznikla za finančnej podpory projektov APVV-0595-07 a VEGA-1/0870/09 v rámci centra CEBIOSEP VVCE-0070-07.

LITERATÚRA

1. <http://www.greenpeace.org/slovakia/campaigns/toxicke-latky/environmentalne-za-a-e/pesticidy>, stav k 9.11.2011.
2. Abu-Qare A. W., Duncan H. J.: *Chemosphere* 48, 744 (2002).
3. Rosinger C., Köcher H.: *Safener for Herbicides, in Modern Crop Protection Compounds* (W. Krmer, U. Schirmer, ed.), kap. 5. Wiley-VCH, Weinheim 2008.
4. <http://sk.wikipedia.org/wiki/Atrazín>, stav k 10.11.2011.
5. <http://www.toxik.arnika.org/chemicke-latky/atrazin>, stav k 10.11.2011.
6. Tomlin C.: *The Pesticide Manual: A World Compendium*, British Crop Protection Council, 2009.
7. Leng G., Kuhn K.-H., Idel H.: *Sci. Total Environ.* 199, 173 (1997).
8. Arrebola F. J., Martine-Vidal J. L., Fernández-Guiterrez A., Akhtar M. H.: *Anal. Chim. Acta* 401, 45 (1999).
9. Garey J., Wolf M. S.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 251, 855 (1998).
10. Shukla Y., Zadav A., Arora A.: *Cancer Lett.* 182, 33 (2002).
11. Packham A. J., Fielden P. R.: *J. Chromatogr., A* 552, 575 (1991).
12. LiChrolut®: Extrakce na tuhou fázi, Merck (firemný materiál).
13. Chichilla T. M. P., Edlung P. O., Henion J. D., Wilson R., Epstein R. L.: *J. Chromatogr.* 488, 389 (1989).
14. Poole C. F.: *Trends Anal. Chem.* 22, 362 (2003).
15. Kirchner M., Matisová E.: *Chem. Listy* 98, 396 (2004).
16. Prosen H., Zupančič-Kralj L.: *Trends Anal. Chem.* 18, 272 (1999).
17. Lancas F. M.: *J. Braz. Chem. Soc.* 14, 183 (2003).
18. Andreu V., Picó Y.: *Trends Anal. Chem.* 23, 772 (2004).
19. Galera M. M., Vidal J. L. M., Frenich A. G., García M. D. G.: *J. Chromatogr., A* 727, 39 (1996).
20. Belmonte Vega A., Garrido Frenich A., Martínez Vidal J. L.: *Anal. Chim. Acta* 538, 117 (2005).
21. Lourencetti C., Rosa Rodrigues de Marchi M., Lúcia Ribeiro M.: *Talanta* 77, 701 (2008).
22. Vargha M., Takáts Z., Márialigeti K.: *Water Res.* 39, 1560 (2005).
23. Hernández-Borges J., García-Montelongo F. J., Cifuentes A., Ángel Rodríguez-Delgado M.: *J. Chroma-*

- togr., A 1100, 236 (2005).
24. Albaseer S. S., Raob R. N., Swamy Y. V., Mukkanti K.: J. Chromatogr., A 1217, 5537 (2010).
 25. Lissalde S., Mazzella N., Fauvelle V., Delmas F., Mazellier P., Legube B.: J. Chromatogr., A 1218, 1492 (2011).
 26. Moliner-Martínez Y., Molins-Legua C., Verdú-Andrés J., Herráez-Hernández R., Campíns-Falcó P.: J. Chromatogr., A 1218, 6256 (2011).
 27. Hutta M., Góra R., Halko R., Chalányová M.: *Analytické separačné metódy na analýzu a charakterizovanie humínových a im podobných látok*. KartPrint, Bratislava 2010.
 28. Hutta M., Góra R., Halko R., Chalányová M.: J. Chromatogr., A 1218, 8946 (2011).
 29. Hubaux A., Vos G.: Anal. Chem. 42, 849 (1970).
 30. Chalányová M., Paulechová M., Hutta M.: J. Sep. Sci. 29, 2149 (2006).
 31. Chalányová M., Hutta M., Pagáč M.: J. Sep. Sci. 33, 134 (2010).

M. Chalányová^a, I. Prochácková^b, and M. Hutta^a
(^a Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, ^b Slovak Hydrometeorological Institute, Bratislava): **Development of Method for Isolation of Selected Group of Pesticides from Soil by Solid Sample Flow-Through Extraction before RP-HPLC Analysis**

An off-line flow-through extraction method from soil samples for HPLC determination of selected group of pesticides has been developed. Methoxurone, atrazine, propazine, simazine, terbutrine, cloquintocet-mexyl, cypermethrin and permethrin were analysed. The effect of amount of Silica L 40/100 sorbent, flow-rate and extract volume on the recovery of the pesticides were studied. The obtained recoveries for 1.0 g of dry soil samples containing 2.5 µg of each pesticides were 67–87 % for triazines pesticides and cloquintocet-mexyl and 40–57 % for pyrethroids cypermethrin and permethrin.