

METÓDY STANOVENIA ATRAZÍNU A JEHO DEGRADAČNÝCH PRODUKTOV PLYNOVOU CHROMATOGRAFIOU

HROUZKOVÁ S., PÁLENÍKOVÁ A., ANDRAŠČÍKOVÁ M.

Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav analytickej chémie, Bratislava, svetlana.hrouzkova@stuba.sk

Pesticídy sú chemické látky používané proti škodlivým živočíchom, burinám a parazitickým hubám, ktoré ohrozujú poľnohospodárske, lesné a záhradné rastliny, zvieratá alebo aj samotného človeka [1]. Moderné poľnohospodárstvo je mimoriadne závislé na používaní pesticídov. Dopestujeme veľké množstvo úrody za relatívne nízke ceny hlavne preto, že bežné plodiny sú ošetrované chemikáliami. Takéto chemikálie nazývame prostriedky na ochranu plodín. Sú to látky určené na hubenie drobných škodcov, sú však často škodlivé aj pre človeka a iné živé organizmy [2]. Triazínové deriváty stále patria medzi najčastejšie používané pesticídy vo svete. Sú to heterocyklické zlúčeniny. Triazíny sa rozdeľujú na chlórtriazíny a metyltriazíny. Patria medzi perzistentné pôdne pesticídy. Medzi chlórtriazínové pesticídy patrí aj atrazín [1], ktorý sa používa predovšetkým v USA. V Európskej únii je jeho použitie zakázané od roku 2005, no aj napriek tomu je často detegovaný vo vzorkách. Atrazín patrí medzi endokrinné disruptory, už na ultrastopových koncentračných hladinách naruša hormonálny systém živých organizmov.

1. Úvod

Plynová chromatografia (GC) je najpoužívanejšia inštrumentálna metóda v environmentálnej analýze organických prchavých a semiprchavých kontaminantov. GC možno s vysokou citlivosťou a rozlišovacou schopnosťou separovať plynné, kvapalné aj tuhé vzorky a v podmienkach GC prchavé a stabilné zlúčeniny, ako aj nestabilné a neprchavé zlúčeniny, ktoré možno derivatizáciu príslušne chemicky modifikovať [3]. Najpoužívanejšie metódy na stanovenie atrazínu sú GC, GC spojená s hmotnostnou spektrometriou (GC-MS) a tandemovou hmotnostnou spektrometriou (MS/MS).

Dôležitý stupeň v analytickej metóde na detekciu a stanovenie atrazínu predstavuje príprava vzoriek, najčastejšie sa používajú rôzne techniky ako extrakcia tuhou fázou (SPE), mikroextrakcia tuhou fázou (SPME) a kvapalinová extrakcia (LLE).

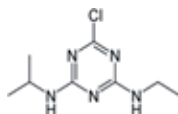
Príspevok podáva prehľad o spôsoboch detekcie a stanovenia atrazínu a jeho degradačných produktov v rôznych maticiach metódou GC a prehľad techník úpravy vzoriek používaných na analýzu rôznych vzoriek s cieľom detegovať a stanoviť atrazín a jeho degradačné produkty na nízkych koncentračných hladinách.

2 Atrazín

2.1 Vlastnosti a použitie atrazínu

Atrazín je organická zlúčenina. Základom jej štruktúry je s-triazínový kruh [4]. Chemická štruktúra je uvedená na Obr. 1 a fyzikálno-chemické vlastnosti sú zosumarizované v Tab. 1. Atrazín je stabilný v neutrálnom, slabo kyslom, slabo zásaditom vodnom prostredí. V silne kyslom, v silne zásaditom príp. neutrálnom prostredí pri 70 °C rýchlo hydrolyzuje za vzniku hydroxyderivátu. Atrazín je selektívny pesticíd, slúži na ničenie burín v kukurici, ciroku, cukrovej trstine. Tieto rastliny sú účinkom atrazínu rezistentné. Obsahujú enzým, ktorý atrazín v ich tkanivách detoxikuje enzýmovou hydrolyzou. Produkty enzýmovej hydrolyzy nemajú pesticídny účinok [1]. Atrazín a jeho deriváty sa tiež používajú v mnohých priemyselných procesoch, vrátane výroby niektorých farbív a výbušnín [4].

Obr. 1 – Chemická štruktúra atrazínu



2.2 Degradácia atrazínu

V podmienkach životného prostredia atrazín degraduje pomaly, deisopropylatrazín (DIA) a deetyl-atrazín (DEA), 2-hydroxyatrazín (HA), deetyl-2-hydroxyatrazín (DEHA), deisopropyl-hydroxyatrazín (DIHA), didealkylatrazín (DDA) a deethyldeisopropyl-

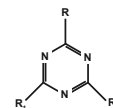
Tab. 1 – Fyzikálno-chemické vlastnosti atrazínu

Teplota topenia	175–177 °C
Rozpustnosť vo vode	33 mg/l pri 20 °C
Rozpustnosť v metanole	18 g/l
Rozpustnosť v chloroforme	52 g/l
Hustota	1,187 g/cm ³ pri 20 °C

hydroxyatrazín (DEDIHA) sú jeho metabolity [5]. Hydroxyatrazín (HYA) zvyčajne vzniká v kyslom prostredí za prítomnosti mastných kyselín, ale preukázaný bol aj spôsob prostredníctvom mikrobiálnej degradácie [6].

DEA a DIA sú rovnako toxické a viac stabilnejšie ako atrazín. V dôsledku toho je potrebné vziať DEA a DIA do úvahy pri hodnotení nebezpečenstva atrazínu na životné prostredie [5]. V Tab. 2 sú znázornené degradačné produkty atrazínu.

Obr. 2 – Štruktúra degradačných produktov atrazínu (funkčné skupiny R, R1, R2- vid' Tab. 2)



Tab.2 – Degradáčnne produkty atrazínu, čiastočne reprodukované z Graymore a kol.7

Látka	Skratka	R	R1	R2
atrazín	ATR	Cl	NHCH(CH ₃) ₂	NHCH ₂ CH ₃
deetyl-atrazín	DEA	Cl	NHCH(CH ₃) ₂	NH ₂
deisopropylatrazín	DIA	Cl	NH ₂	NHCH ₂ CH ₃
didealkylatrazín	DDA	Cl	NH ₂	NH ₂
hydroxyatrazín	HA	OH	NHCH(CH ₃) ₂	NHCH ₂ CH ₃
deethylhydroxy-atrazín	DEHA	OH	NHCH(CH ₃) ₂	NH ₂
deisopropylhydroxy-atrazín	DIHA	OH	NH ₂	NHCH ₂ CH ₃

3 Príprava vzoriek

Na kvapalné a tuhé vzorky životného prostredia sa najčastejšie používa extrakcia tuhou fázou (SPE), najmä ak je potrebné dosiahnuť nízke medze stanovenia [8, 9]. Nevýhodou, je, že vyžaduje organické rozpúšťadlá a pomerne veľký objem vzoriek [10]. Preto sa v súčasnosti s výhodou využíva bezrozpúšťadlová technika mikroextrakcie na tuhej fáze (SPME). Cieľové analyty sa sorbujujú na povrchu vlákien, následne sa termicky desorbujú priamo do chromatografického systému [11]. Použitie vlákien je obmedzené

polaritou, v posledných rokoch sa vývoju vhodných vlákien venuje viacero prác [12–14].

3.1 Príprava kvapalných vzoriek

Na izoláciu atrazínu z kvapalných vzoriek sa najčastejšie aplikujú nasledovné techniky: kvapalinová extrakcia, extrakcia tuhou fázou (SPE), alebo mikroextrakcia tuhou fázou (SPME). Analytické merania sa realizujú využitím GC za použitia buď dusíkovo-fosforového detektora (NPD), plameňovoionizačného detektora (FID) alebo hmotnostnej spektrometrie (MS) [15]. SPE je najviac používaná technika na predkoncentráciu atrazínu zo vzoriek vôd. Atrazín bol najčastejšie izolovaný sorbentom C18, ale na stanovenie metabolitov nie je najvhodnejší vzhľadom na ich vyššiu polaritu ako atrazín. Na izoláciu metabolitov sú vhodnejšie makromolekulové sorbenty [5], ako lipofilné divinylbenzény, hydrofilné N-vinylpyrolidóny [16], styrén-divinylbenzény [17] a zosieťované styrén-divinylbenzény [18]. Min a kol. [5] testovali ako SPE sorbent mnohostenové uhlíkové nanorúrky. Parametre pre extrakciu boli optimalizované použitím fortifikovaných vodných vzoriek. Ako extrahovadlo bol použitý metanol, acetón, éter, n-hexán a zmes octanu etylnatého a n-hexánu. Polarita extrahovadla je dôležitým faktorom. N-hexán ako najviac hydrofóbne rozpúšťadlo bol najmenej účinný. Optimálnym rozpúšťadlom na desorpciu z mnohostenových uhlíkových nanorúrok bol octan etylnatý [5].

Jiang a kol. [19] použili ako SPE sorbenty Oasis MCX a grafitizovaný uhlík ENVI-Carb, na vyhodnotenie bol použitý deuterovaný vnútorný štandard. Deuterovaný atrazín ako vnútorný štandard použili Zongwei a kol. [20], C18-SPE kolónky boli premyté octanom etylnatým, metanolom a vodou, na elúciu bol najvhodnejší octan etylnatý. Extrakty boli analyzované metódou GC-MS s iónovou pascou.

Navado a kol. [21] stanovovali atrazín, simazín, propazín, tiometyl-triazíny a ďalšie chloro-s-triazíny vo vzorkách vôd. S-triazínové herbicidy boli úspešne extrahované z vodných vzoriek použitím SPE sorbentov RP-C18 [22], alebo sorbentov na báze polystyrén-divinylbenzenu [23].

Na úpravu kvapalných vzoriek bola opísaná technika SPME [10]. SPME vlákno potiahnuté 100 μm vrstvou polydimetylsiloxánu je vhodné na stanovenie triazínových herbicidov [24]. Štúdie ukazujú, že ak pH vzoriek je upravené z neutrálnej na zásaditú alebo kyslú, účinnosť extrakcie klesá. Optimálny čas extrakcie bol 40 min [10].

3.2 Príprava vzoriek s vysokým obsahom tuku

Stanovenie triazínov v olivovom oleji prináša komplikácie pri výbere extrakčných činidiel. Zistilo sa, že zmes acetonitrilu a n-hexánu je najefektívnejším extrahovadlom. Pridaním malého množstva n-hexánu a ochladením vzorky zostávajú triacylglyceroly vo vrstve n-hexánu. Vzorka olivového oleja s vnútorným štandardom sa rozpustí v n-hexáne a pridá sa acetonitril, zmes sa premieša a centrifuguje. Následne sa roztok ochladí, aby sa vrstvy oddelili a nakoniec sa k extraktu pridá malé množstvo bezvodého síranu sodného. Rozpúšťadlo sa odparí a vysušený extrakt sa rozpustí v petroleum-benzinovej zmesi s dietyléterom. Výsledný roztok sa čistí na florisilovej kolóne, následne sa odparí dosucha a v acetóne sa dávkuje do GC-ECD, alebo v cyklohexáne do GC-MS/MS [25].

3.3 Príprava tuhých a polotuhých vzoriek

Najpoužívanejšia technika na prípravu tuhých vzoriek pre GC analýzu je extrakcia kvapalinou. Na čistenie extraktu a na izoláciu analytov z extraktu sa používa technika SPE a technika SPME. SPE sa používa pri príprave pôdnych vzoriek, SPME dominuje pri príprave zeleniny.

Dôležité sú aj techniky stabilizácie analytu v odobratej vzorke počas transportu do laboratória. Bohuss a kol. [15] testovali viaceré techniky – extrakcia na mieste odberu, vymrazenie vzorky, chladenie, vysušenie za vákua, sušenie vymrazením – na stabilizáciu atrazínu vo vzorkách biovrstvy, ktoré boli odobraté z kameňov 30 cm pod povrchom vody v jazere. Zistilo sa, že baktérie žijúce v jazerných vodách produkujú mimobunkové polymérne substancie,

ktoré zvyšujú sorpciu toxických látok ako je atrazín v biovrstve. Na extrakciu atrazínu z biovrstvy boli testované rozpúšťadlá – metanol a acetonitril s využitím ultrazvukového kúpeľa. Z ENVI-Carb kolónky použité na izoláciu analytu z extraktu sa atrazín eluoval zmesou metanol-dichlormetán. Po odparení rozpúšťadiel sa odparok rozpustil v metanole a dávkoval sa do GC. Pre obe rozpúšťadlá sa dosiahla účinnosť extrakcie blízka 100%. Vzhľadom na to, že metanol extrahuje aj chlorofyl z biovrstvy a sú potrebné následné kroky čistenia, na extrakciu atrazínu z biovrstvy bol vhodnejší acetonitril.

Min a kol. [5] použili na extrakciu pôdnych vzoriek zmes metanolu a vody. Po centrifugácii bol z výsledného extraktu odparený metanol a extrakt sa prečistil použitím SPE kolónky s náplňou mnohostenových uhlíkových nanorúrok. Na validáciu metódy boli použité vzorky pôdy fortifikované atrazínom, DIA a DEA s koncentráciou 30, 100, 500 g/l. Korelačné koeficienty (R^2) kalibračnej krivky boli vyššie ako 0,99. Výťažky pesticidov z fortifikovanej pôdy sa pohybovali v rozmedzí 86–110 % s RSD do 13%. Metóda poskytuje medze detekcie v rozmedzí 0,02–0,05 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Djozan a kol. [26] testovali nové monolitické ametrýnom molekulo značené SPME vlákno pripravené kopolymerizáciou kyseliny metakrylovej (funkčný monomér) s etylén-glykoldimetakrylátom (zosieťujúce činidlo) a značené ametrýnom (template) na analýzu vzoriek ako cibuľa, kukurica a ryža. Vzorky drvenej cibule a kukurice boli fortifikované rôznymi množstvami ametrynu, terbutrínu, prometrínu, atrazínu, propazínu, simazínu, cyanazínu a riedené ultračistou vodou, aby sa dosiahla vhodná koncentrácia zmesi. Uvedenou technikou bola dosiahnutá medza detekcie atrazínu 56 ng/ml.

Na extrakciu triazínových herbicidov z rôznych typov pôdy a z rôznej hĺbky je výhodné použiť techniku extrakcie za zvýšeného tlaku (pressurised liquid microextraction – PLE) [27]. Zo študovaných rozpúšťadiel bol acetón najvhodnejším riešením. Extrakty boli odparené dosucha, rozpustené v etylacetáte a následne analyzované GC-MS/MS.

Štúdiom biologickej a chemickej transformácie atrazínu vo vzorkách piesku a pobrežných sedimentov za zaoberali Smalling a kol. [6]. Sedimenty s rôznym obsahom organického uhlíka extrahovali organickým rozpúšťadlom (zmes octanu etylnatého s acetónom) a následne podrobili alkalickéj hydrolyze. Atrazín, DEA a DIA stanovovali vo vodnej, rozpúšťadlovej a zásaditej frakcii. Vodná frakcia indikuje tvorbu polárnych metabolitov a/alebo desorpciu prekursorov zo sedimentu. Zmeny v rozpúšťadlovej frakcii predstavujú tvorbu voľných väzieb reziduí a zásaditá frakcia predstavuje prekursorové látky a/alebo ich metabolity naviazané na humínové látky.

4 Detekcia a stanovenie atrazínu

Na detekciu a stanovenie triazínových herbicidov a ich dealkylovaných metabolitov sa najčastejšie používa GC [20, 22]. V závislosti od použitej detekčnej techniky v nasledujúcich podkapitolách uvádzame prehľad najnovších prác zaoberajúcich sa stanovením uvedených analytov. V Tab. 3 je zosumarizovaný prehľad detekčných techník na identifikáciu atrazínu a ďalších herbicidov v rôznych vzorkách. Prehľadová tabuľka zobrazuje aj informácie o type vzorky, technike úpravy vzorky a uvádza aj medzu detekcie uvedenej metódy.

4.1 Metóda GC-MS

Na stopovú analýzu je vhodné priame spojenie kapilárnej kolóny s iónovým zdrojom. Na dosiahnutie vhodnej selektivity sa volia pre každú zlúčeninu charakteristické ióny, ktoré vykazujú vysokú intenzitu v spektre tejto zlúčeniny a nevyskytujú sa v spektre iných podielov matrice, vhodné sú najmä vyššie hmotnostné fragmenty [3]. Ming a kol. [5] vyvinuli GC-MS metódu na stanovenie atrazínu a jeho metabolitov DIA, DEA vo vodných a v pôdnych vzorkách. Na Obr. 3 je na ilustráciu vybraný chromatogram fortifikovanej vody a reálnej vzorky vody. Zistilo sa, že väčšina reálnych vzoriek bola kontaminovaná atrazínom.

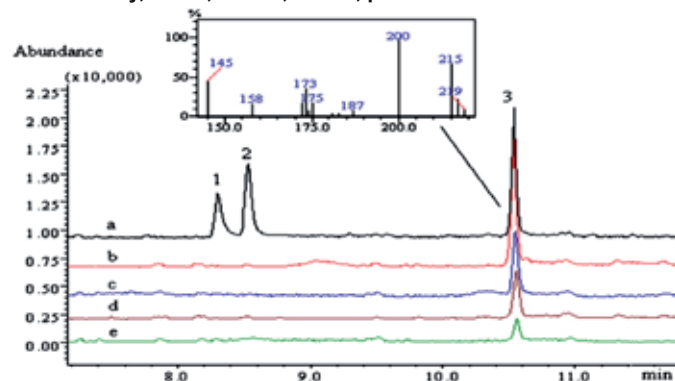
Pokračovanie na ďalšej strane

Tab. 3 – Prehľad detekčných techník na identifikáciu a stanovenie atrazínu a ďalších triazínových herbicídov rôznych matriciach

Analyt	Matrica	Technika úpravy vzorky	Detekčná technika	Medza detekcie	Cit.
ATR, DIA, DEA	Voda	SPE; mnohostenové uhlíkové nanorúrky	GC-MS	0,02–0,05 µg/kg	5
ATR, SIM	Voda	SPME; PDMS vlákno	GC-MS	0,25 µg/l, 0,5 µg/l	10
ATR, DEA DIA, DDA	Voda	SPE	GC-MS	0,02–0,06 µg/l 0,03–0,11 µg/l	19
ATR, DIA, DEA	Voda	SPE; C 18	GC-MS/MS	0,02–0,05 µg/kg	20
ATR	Voda	SPME; PDMS/ divinylbenzén	GC-MS	2–8 µg/l	28
ATR	Olivový olej	SPE	GC-ECD GC-MS/MS	100 µg/kg, 1 µg/kg	25
ATR	Cibuľa, Kukurica, Ryža	SPME; MIP vlákno	FID	0,93 ng/g, 14ng/g	26
ATR, DIA, DEA	Pôda	SPE; mnohostenové uhlíkové nanorúrky	GC-MS		5
ATR, DEA, DIA	Pôda	SPE	GC-MS	1,5–10 ng/kg	6
ATR	Pôda	PLE	GC-MS/MS	1,9 µg/kg	27
ATR	ovocie, zelenina	QuEChERS	rýchla GC-MS	0,09 µg/kg (EI) 0,3 µg/kg (NCI)	29
ATR	detská výživa	QuEChERS	rýchla GC-MS	<0,5 µg/kg	30

Pozn.: ATR- atrazín, DIA- deizopropyl-atrazín, DEA- deetyl-atrazín, DDA- didealkyl-atrazín, EI- elektrónová ionizácia, FID- plameňovo ionizačný detektor, GC- plynová chromatografia, MS- hmotnostná spektrometria, NCI- negatívna chemická ionizácia, PLE (pressurised liquid extrakcia)- extrakcia za zvýšeného tlaku, QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe)- rýchla, jednoduchá, lacná, efektívna a bezpečná extrakčná metóda na stanovenie pesticídov, SIM- simazín, SPE- extrakcia tuhou fázou, SPME- mikroextrakcia tuhou fázou.

Obr. 3 – SIM chromatogram (a) fortifikovanej (10µg/l) a (b-e) reálnych vzoriek vody, 1-DIA, 2-DEA, 3-ATR, prevzaté z Min a kol.5



Súčasný stanovenie metabolitov atrazínu DEA a DIA s polárnym metabolitom DDA v pitnej vode je problematické. Jiang a kol. [16] vyvinuli metódu, ktorá umožňuje simultánne stanovenie ATR, DEA, DIA a DDA metódou GC-MS. Zásobné roztoky boli pripravené v metanole, metóda využíva deutérovaný vnútorný štandard. Na zostrojenie kalibračnej krivky boli použité roztoky s koncentraciami 0, 0,3, 0,5, 1 a 3 µg/l. Jiang a kol. [19] kombinovali metódu kalibračnej krivky s vnútorným štandardom. Medza detekcie (LOD) a medza stanovenia (LOQ) pre všetky analyty okrem DDA bola rovná alebo nižšia ako 0,02 a 0,06 µg/l, pre DDA boli hodnoty mierne vyššie – 0,03 a 0,11 µg/l. Smalling a kol. [6] dosiahli medzu detekcie pre atrazín, DEA a DIA v rozmedzí 1,5 a 10 ng/g. Pred extrakciou do vzoriek pridávali deuterovaný atrazín ako interný štandard. Rocha a kol. [10] získali využitím techniky GC-MS medzu detekcie pre simazín 0,5 µg/l a pre atrazín 0,25 µg/l. Výsledky analýzy reálnych vzoriek ukázali, že koncentrácia atrazínu bola 12-krát vyššia ako maximálna dovolená koncentrácia v pitnej vode. Tomkins a Ilgner [28] metódou GC-MS stanovovali atrazín v povrchových vodách a dosiahli medze detekcie v rozmedzí 2–8 µg/l.

Hrouzková a kol. [29] vyvinuli a validovali metódu rýchlej GC-MS [31, 32] na prieskum nízkych hladín endokrinné disruptívnych pesticídov vrátane atrazínu v potravinových matriciach na Slovensku. Pri použití elektrónovej ionizácie dosiahli medzu stanovenia 0,09 ng/ml v prípade aplikácie negatívnej chemickej ionizácie 0,3 pg/ml, čo zodpovedá koncentraciám 0,09 µg/kg, resp. 0,3 ng/kg potravinovej matrice. Výťažnosť atrazínu po extrakcii technikou

QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe – rýchla, jednoduchá lacná, efektívna, robustná a bezpečná metóda na extrakciu pesticídov) z ovocia na koncentračných hladinách 1–250 µg/kg sa pohybovali v rozmedzí 90–110 %. Z 34 reálnych vzoriek bol atrazín stanovený s koncentraciou 6 µg/kg vo vzorke manga, hodnota maximálneho reziduálneho limitu (MRL) pre atrazín/mango je 50 µg/kg. Kirchner a kol. [30] zhodnotili možnosti a limitácie použitia kvadrupólového hmotnostného spektrometra vo full scan móde aj v móde selektívneho monitorovania iónov v kombinácii s rýchlou GC s použitím kapilárnych kolón s vnútorným priemerom ≤0,15mm na detekciu skupiny pesticídov vrátane simazínu a terbutylazínu v detskej výžive. Rýchla GC-MS metóda spĺňa požiadavku LOQ <5 µg/kg na analýzu pesticídov v detskej výžive.

4.2 GC-MS/MS

Použitím tandemovej hmotnostnej spektrometrie (MS/MS) v analýze herbicídov v stopových koncentraciách možno dosiahnuť vysokú citlivosť a selektivitu [20].

Aramendía a kol. [25] dosiahli GC-MS/MS metódou dostatočnú selektivitu a kvantifikáciu herbicídov v olivovom oleji s medzou detekcie 1 µg/kg. Vysokorozlišovacia hmotnostná spektrometria (HRMS) má veľmi dobrú selektivitu pre atrazín a jeho degradačné produkty vo vodných vzorkách, ale vysoká cena prístroja obmedzuje jeho použitie. Cai a kol. [20] vyvinuli metódu GC/MS s použitím iónovej pasce v MS/MS režime pre analýzu herbicídov a použitie na kvantitatívnu analýzu atrazínu vo vode pomocou izotopovej zriedovacej techniky. Zásobný roztok DIA, DEA, simazínu, atrazínu a deuterovaného atrazínu bol pripravený v octane etylatome. Prvým krokom analýzy bolo určenie retenčných časov. Štandardný roztok bol analyzovaný vo full scan móde. Identifikácia analytov vo vzorkách vody bola založená na porovnaní retenčných časov a na detekcii vybraných charakteristických iónov v MS/MS spektre. Kvantifikácia atrazínu bola vykonaná izotopovou zriedovacou technikou. Deuterovaný atrazín bol použitý ako vnútorný štandard. Izotopová zriedovacia technika poskytuje lepšiu presnosť pre kvantifikáciu analytov v stopových koncentraciách. Všetky analyty obsahujú rovnaké jadro, triazínový kruh, a majú podobné chemické zloženie, ktoré môže viesť k interferenciám pri MS/MS kvantifikácii, preto je potrebná dostatočná chromatografická separácia analytov. Priemerné výťažnosti získané z analýz štandardných vzoriek vody s koncentraciou 24 µg/l DEA, simazínu, atrazínu a DIA boli 21, 86, 92, a 83%. Na koncentračnej hladine 1000 µg/l boli získané lepšie výťažky 94% pre atrazín a 85% v prípade DEA. Zistené úrovne

atrazínu vo všetkých vzorkách boli výrazne nižšie ako maximálna povolená koncentrácia 2 $\mu\text{g/l}$.

Dagnac a kol. [27] analyzovali vzorky pôdy technikou GC-MS/MS. Ako vnútorný štandard bol použitý deutérovaný atrazín. Na stanovenie analytov vo vzorkách bola použitá kombinovaná metóda kalibračnej krivky s vnútorným štandardom. Na MS/MS chromatograme pri m/z 146, 200 a 172 píky potvrdzujú prítomnosť acetochlóru, atrazínu a DEA vo vzorkách pôdy. Priemerné výťažnosti triazínov boli vyššie ako 85% pre všetky vstupné koncentrácie. Medza detekcie atrazínu bola 1,9 $\mu\text{g/kg}$, DIA 1,6 $\mu\text{g/kg}$, DEA 2,5 $\mu\text{g/kg}$. Výsledky validácie metódy boli porovnané s výsledkami metódy HPLC-APCI/MS (APCI-atmospheric pressure chemical ionization). Z výsledkov štúdie vyplýva, že metóda GC-MS/MS poskytuje presnejšie výsledky stanovenia triazínov.

4.3 Iné detekčné techniky

Na stanovenie herbicídov v olivovom oleji bol použitý detektor elektrónového záchyty (ECD) [25]. Zistilo sa, že metóda GC-ECD nebola dostatočne selektívna. Lineárny rozsah a koeficient determinácie, získané z kalibračnej krivky, rovnako ako opakovateľnosť ($n=5$) a reprodukovateľnosť ($n=6$) stanovovaných herbicídov boli veľmi podobné. Pre atrazín bola získaná hodnota koeficientu determinácie 0,99, opakovateľnosť 5%, reprodukovateľnosť 9%. S použitím ECD nebola poskytovaná jednoznačná identifikácia a výsledky boli ovplyvnené maticovými interferenciami takej komplexnej matrice ako je olivový olej.

Na detekciu triazínov vo vzorkách cibule a kukurice bol použitý plameňovoionizačný detektor [26]. Medza detekcie atrazínu vo vzorke cibule a kukurice bola 0,93 $\mu\text{g/kg}$, vo vzorke ryže 14 $\mu\text{g/kg}$.

5 Záver

Atrazín patrí do skupiny s-triazínových herbicídov a používal sa na rôzne poľnohospodárske plodiny ako obilie, kukurica, ale aj golfové ihriská, okolie železníc a podobne. Doteraz sa aplikuje v krajinách mimo EÚ. V EÚ je jeho použitie prísne kontrolované nakoľko sa zistilo, že atrazín má toxické účinky na živé organizmy, patrí do skupiny endokrinných disrupterov a môže mať negatívny vplyv na vývoj a rast živých organizmov už pri nízkych koncentráciách [33].

Práca je venovaná prehľadu techník používaných na extrakciu, izoláciu a predkoncentráciu atrazínu, jeho rozkladných produktov a ďalších s-triazínových herbicídov z matric životného prostredia a z potravinových matric. Najčastejšie využívanými technikami opísanými literatúre sú predovšetkým kvapalinová extrakcia, SPE a SPME s využitím predovšetkým potenciálu syntetických sorbentov a sorbentov špeciálne pripravených „na mieru“. Na detekciu atrazínu, rozkladných produktov a triazínových herbicídov sa používajú detektory ECD, FID, NPD, najperspektívnejšie je použitie má spojenie techník GC-MS a GC-MS/MS.

Literatúra

- [1] PÍŠ, V. Štúdium pohybu triazínov a ich prerozdelenie medzi pôdou a rastlinou pri rôznych podmienkach výživy a vodného režimu. Dizertačná práca, Nitra, 2005.
- [2] ACKERMAN, F. The Economics of Atrazine. *Int. J. Occup. and Environment* 2007, 13, 441–448.
- [3] SOJÁK, L., HUTTA, M., ŽEMBĚRYOVÁ, M. Plynová chromatografia v environmentálnej analýze. UKBratislava, 2002.
- [4] <http://en.wikipedia.org/wiki/Atrazine>
- [5] MIN, G., WANG, S., ZHU, H., FANG, G., ZHANG, Y. Multi-walled carbon nanotubes as solid-phase extraction adsorbents for determination of atrazine and its principal metabolites in water and soil samples by gas chromatography-mass spectrometry. *Sci. Total Environ.* 2008, 396, 79–85.
- [6] SMALLING, K.L., AELION, M. Biological and chemical transformation of atrazine in coastal aquatic sediments. *Chemosphere* 2006, 62, 188–196.
- [7] GRAYMORE, M., STAGNITTI, F., ALLINSON, G. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems *Environ. Internat.* 2001, 26, 483–495.
- [8] BALINOVA, A. Solid-phase extraction followed by high-performance liquid chromatographic analysis for monitoring herbicides in drinking water. *J. Chromatogr. A* 1993, 643, 203–207.
- [9] PICHON, V., HENNINON, M.C. Determination of pesticides in environmental waters by automated on-line trace-enrichment and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1994, 665, 269–281.
- [10] ROCHA, C., PAPPAS, E.A., HUANG, C. Determination of Trace Triazine and Chloroacetamide Herbicides in Tile-Fed Drainage Ditch Water Using Solid-Phase Microextraction Coupled with GC-MS. *Environ. Pollution* 2008, 152, 239–244.
- [11] GUAN, W., XU, F., LIU, W., ZHAO, J., GUAN, Y. A new poly(phthalazine ether sulfone ketone)-coated fiber for solid-phase microextraction to determine nitroaromatic explosives in aqueous samples. *J. Chromatogr. A* 2007, 1147, 59–65.
- [12] BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., CARASEK, E. Preparation and application of NiTi alloy coated with ZrO₂ as a new fiber for solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. A* 2007, 1164, 18–24.
- [13] BUDZIAK, D., MARTENDAL, E., CARASEK, E. Application of NiTi alloy coated with ZrO₂ as a new fiber for solid-phase microextraction for determination of halophenols in water samples. *Anal. Chim. Acta* 2007, 598, 254–260.
- [14] ZHOU, F., LI, X., ZENG, Z. Determination of Phenolic Compounds in Wastewater Samples using a Novel Fiber by Solid-phase Microextraction Coupled to Gas-chromatography. *Anal. Chim. Acta* 2005, 538, 63–70.
- [15] BOHUSS, I., BOZÓKI, J., BARKÁCS, K., ZÁRAY, GY. Comparison of sample preparation methods applied for determination of atrazine in freshwater biofilms by gas chromatography-mass spectrometer system. *Microchem. J.* 2003, 74, 165–171.
- [16] GFRERER, M., WENZL, T., QUAN, X., PLATZER, B., LANKMAYR, E. Occurrence of triazines in surface and drinking water of Liaoning Province in Eastern China. *J. Biochem. Biophys. Methods* 2002, 53, 217–228.
- [17] LOOS, R., NIESMER, R. Analysis of atrazine, terbutylazine and their N-dealkylated chloro and hydroxy metabolites by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis-ultraviolet detection. *J. Chromatogr. A* 1999, 835, 217–229.
- [18] SABIK, H., JEANNOT, R., RONDEAU, B. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *J. Chromatogr. A* 2000, 885, 217–236.
- [19] JIANGA, H., ADAMS, C.D., KOFFSKEYB, W. Determination of chloro-s-triazines including didealkylatrazine using solid-phase extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2005, 1064, 219–226.
- [20] CAI, Z., WANG, D., MA, W.T. Gas chromatography/ion trap mass spectrometry applied for the analysis of triazine herbicides in environmental waters by an isotope dilution technique *Anal. Chim. Acta* 2005, 503, 263–270.
- [21] NEVADO, J.J.B., GUIBERTEAU, C., VILLASENOR, M.J., ROBLEDÓ, V.R. Sensitive SPE GC-MS-SIM screening of endocrine-disrupting herbicides and related degradation products in natural surface waters and robustness study. *Microchem. J.* 2007, 87, 62–71.
- [22] BROSSA, L., MARCÉ, R.M., BORRULL, F., POCURULL, E. Determination of endocrine-disrupting compounds in water samples by on-line solid-phase extraction-programmed-temperature vaporisation-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2003, 998, 41–50.

Dokončení na ďalší straně

- [23] COQUART, V., HENNION, M.C. Determination of chlorotriazines in aqueous environmental samples at the ng/l level using preconcentration with a cation exchanger and on-line high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1991, 585, 67–73.
- [24] KRUTZ, L.J., SENSEMAN, S.A., SCIUMBATO, A.S. Solid-phase microextraction (SPME) for herbicide determination in environmental samples. *J. Chromatogr. A* 2003, 999, 103–121.
- [25] ARAMENDIA, M., BORAU, V., LAFONT, F., MARINAS, A., MARINAS, J.M., MORENÓ, J.M., URBANO, J.F. Determination of herbicide residues in olive oil by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry* 2007, 105, 855–861.
- [26] DJOZAN, D., MAKHAM, M., EBRAHIMI, B. Preparation and binding study of solid-phase microextraction fiber on the basis of ametryn-imprinted polymer: application to the selective extraction of persistent triazine herbicides in tap water, rice, maize and onion. *J. Chromatogr. A* 2009, 1216, 2211–2219.
- [27] DAGNAC, T., BRISTEAU, S., JEANNOT, R., MOUVET, C., BARANA, N. Determination of chloroacetanilides, triazines and phenylureas and some of their metabolites in soils by pressurised liquid extraction, GC-MS/MS, LC-MS and LC-MS/MS. *J. Chromatogr. A* 2005, 1067, 225–233.
- [28] TOMKINS, B.A., ILGNER, R.H. Determination of atrazine and four organophosphorus pesticides in ground water using solid phase microextraction (SPME) followed by gas chromatography with selected-ion monitoring. *J. Chromatogr. A* 2002, 972, 183–194.
- [29] HROUZKOVÁ S., MATISOVÁ E., ANDRAŠČÍKOVÁ M., HORVÁTH M., HUŠKOVÁ R., ĎURČANSKÁ J. Survey of Low-level Endocrine Disrupting Pesticides in Food Matrices in Slovakia. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2011, v tlači.
- [30] KIRCHNER M., MATISOVÁ E., HROUZKOVÁ S., deZEE-UW J. Possibilities and limitations of quadrupole mass spectrometric detector in fast gas chromatography. *J. Chromatogr. A* 2005, 1090, 126–132.
- [31] HROUZKOVÁ S., MATISOVÁ E. Fast Gas Chromatography and Its Use in Pesticide Residues Analysis. Kapitola v Pesticides – strategies for pesticides analysis. Intech, Croatia, 2011.
- [32] MATISOVÁ E., DÖMÖTÖROVÁ M. Fast gas chromatography and its use in trace analysis. *J. Chromatogr. A* 2003, 1000, 199–221.
- [33] HROUZKOVÁ S., ANDRAŠČÍKOVÁ M., MATISOVÁ E., PROUSEK J. Endokrinné disruptčné chemikálie zo skupiny xenobiotík. Súčasný stav a legislatíva. *Chem. Listy* 2011, odoslané do redakcie.

Pod'akovanie: Práca bola finančne podporovaná Vedeckou grantovou agentúrou MŠ SR – projekt VEGA č. 1/0647/11.

Abstract

METHODS FOR DETERMINATION OF ATRAZINE AND ITS DEGRADATION PRODUCTS BY GAS CHROMATOGRAPHY

Summary: Atrazine is the s-triazine herbicide that was worldwide used as selective pre- and post-emergence herbicide for the control of seeds in many agricultural crops. The first part of the contribution is devoted to the atrazine properties, degradation products, environmental effects and to the impact of atrazine on development of organisms. The main part of the work is devoted to the preconcentration and isolation techniques overview. SPE and SPME techniques with the broad range of sorbents are the most often utilized techniques and they are useful in achieving low detection limits. Atrazine and its metabolites are detected in environmental and food samples mostly by chromatographic techniques; GC-MS represents the most powerful technique for detection.

Key words: atrazine, s-triazines, endocrine disrupting chemicals, gas chromatography