

Alachlor

Alachlor patří mezi organochlorové pesticidy, které byly užívány od 70. let. V České republice patřil k nejvíce užívaným pesticidům. Alachlor pravděpodobně ovlivňuje endokrinní systém, karcinogenní a jiné účinky nejsou zatím potvrzeny. Alachlor (Ferrero et al., 1997) je často z půdy vymýván a kontaminuje podzemní vody. V půdách je alachlor poměrně hodně těkavý a snadno přechází do ovzduší. Alachlor je pravděpodobně genotoxický (Ribas et al., 1996). Alachlor je embryotoxickou a teratogenní látkou (Kang et al., 2005). Teratogenita byla prokázána u embryí žab, na DNA působí jako alkylační agent (Surralles et al., 1995). Adsorpce a biodostupnost alachloru (Koskinen et al., 2003) v půdách může být korelována s obsahem organické hmoty, s obsahem jílových minerálů, povrchovou plochou a CEC. Pokud (Weber et al., 1982) se zvyšuje obsah organické hmoty a jílových minerálů, tak se zvyšuje adsorpce a snižuje se biodostupnost. Chemické vlastnosti půd (pH, typ organické hmoty a její obsah, jílové minerály CEC a Eh ovlivňují adsorpci a degradaci pesticidů (Leasan a Bhandari, 2004). Půda se větším obsahem organické hmoty a jílových minerálů obvykle více adsorbuje pesticidy a brání jejich mobilitě. Shin a Chejry (2004) předpokládají, že adsorpce triazinových herbicidů závisí na typu jílových minerálů. Interakce mezi pH, organickou hmotou, degradací a adsorpcí pesticidů jsou poměrně komplikované. Alachlor (Schwab et al., 2006) je více adsorbována na půdní částice než atrazin.

Metody stanovení

Standardizované metody stanovení

ISO 14507:2005 Soil quality – Pretreatment of samples for determination of organic contaminants

Mezinárodní norma specifikuje 3 metody předúpravy vzorků půd v laboratoři před vlastním stanovením organických polutantů. Jsou zde uvedeny postupy s ohledem na chemický charakter stanovovaných látek: těkavé organické látky, polotěkavé organické látky – matrice obsahuje částice větší než 2 mm pa má heterogenní distribuci kontaminantu v matrici, stanovení stabilních organických látek, velikost půdních částic je < 2 mm a polutanty jsou homogenně rozšířeny v matrici. Organické látky, které jsou stabilní, mohou být připraveny pro analýzu podle ISO 11464.

ASTM D5369 – 93(2008)e1 ASTM D5369 – 93(2008)e1 Standard Practice for Extraction of Solid Waste Samples for Chemical Analysis Using Soxhlet Extraction

Je obecnou metodou pro extrakci organických látek z půd, sedimentů, kalů a jemnozrnných odpadů pomocí rozpouštědel. Metoda se používá pro určení celkového extrahovatelného obsahu (TSEC) – Soxhletova extrakce se uplatňuje hlavně při analýzách směsí (půdy/odpady), které vytváří emulze při přímém použití rozpouštědel. Pro organochlorové insekticidy se používá směs aceton/hexan (1:1).

ISO 22892:2006 Soil quality – Guidelines for the identification of target compounds by gas chromatography and mass spectrometry

Norma uvádí kritéria pro techniku plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC-MS) pro celou řadu složek v půdách. Používá se v součinnosti se standardy připravenými pro stanovení specifických analytů. Identifikační kritéria jsou založena na srovnání retenčních časů pro interpretaci elektronových ionizačních hmotnostních spekter nebo pokud je to nutné na dalších relevantních faktorech.

U.S. EPA Method 1656 Gas chromatography of organo-halide pesticides

Metoda je určena pro stanovení organohalidových pesticidů a dalších vyjmenovaných látek ve vodách, kalech, sedimentech a půdách. V případě, že vzorek kalu obsahuje > 30 % sušiny, je připraven extrakt obsahující pouze 1 % sušiny. Vzorky půd jsou extrahovány acetonitrilem a methylen chloridem metodou 3350 (extrakce ultrazvukem) nebo superkritickou fluidní extrakcí (metoda 3562). Extrakt je zpětně extrahován 2% Na₂SO₄ aby se odstranily vodorozpustné interferující látky. Dále je přečištěn metodami 3610, 3620 a 3640. Identifikace polutantů se provádí porovnáním retenčních časů.

U.S. EPA 8081B Organochlorine pesticide by GC

Metoda 8081 může být užita pro stanovení pesticidů v extraktech vzorků pevných a kapalných pomocí GC s ECD (detektor elektronového záchytu) nebo ELCD (elektrolytický konduktivní detektor). Technika umožňuje stanovit aldrin, chlordan, 4,4'-DDT, 4,4'-DDE, 4,4'-DDD, dieldrin endosíran (I a II), endrin. Dále mohou být stanoveny i alachlor, mirex, nitrofen a další pesticidy. 20 – 30 g vzorku je extrahováno směsí hexan:aceton (1:1) nebo methylenchlorid:aceton (1:1) pomocí některé z těchto metod: 3540 (Soxhletova extrakce), 3541 (automatizovaná Soxhletova extrakce), 3545 (tlaková kapalná extrakce), 3546 (mikrovlňná extrakce), 3550 (ultrazvuková extrakce), 3562 (superkritická fluidní extrakce). Po extrakci je vzorek čištěn od interferujících látek např.oxid hlinitý (metoda 3610), Florisil (metoda 3620), silikagel (3630), gelová permeační chromatografie (metoda 3640) a pro odstranění síry se používá metoda 3660. Po vyčištění je extrakt analyzován injektáží alikvoty do plynového chromatografu a analyzován buď GC/ECD nebo GC/ELCD. Kvantifikace se provede na základě kalibrační křivky se standardními roztoky.

Interference – kontaminovaná rozpouštědla, chemikálie, činidla, vzorky, přístrojové vybavení (kolony, nosný plyn, povrch detektoru apod.). Interference esterů ftalátů – vznikají během přípravy vzorků (nepoužívat plastové obaly, nádobí apod.). Síra – způsobuje na chromatogramu široké píky, proto musí být ze vzorku (hlavně sedimentů) odstraňována. Dále interferují pryskyřice, vosky a lipidy – odstraňovány jsou gelovou permeační chromatografií (metoda 3640). Pokud ve vzorku jsou přítomné i jiné halogenované substance, mohou také interferovat. Pro jejich odstranění se používají následující metody 3630 (silikagel) – odstranění chlorofenolů, 3620 (Florisil) nebo 3610 (oxid hlinitý). PCB jsou odstraňovány metodou 3620 a 3630.

Nestandardizované metody stanovení

Gonçalves C., Carvalho J.J., Azenha M.A., Alpendurada M.F. (2006): Optimization of supercritical fluid extraction of pesticide residues in soil by means of central composite design and analysis by gas chromatography – tandem mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 1110, 6-14.

Vzorky půd jsou extrahovány pomocí superkritické extrakce. Superkritická extrakce poskytuje mnoho výhod – rychlost, jednoduchost, vysokou selektivitu a dobrou extrakční účinnost. Superkritická extrakce nevyžaduje čisticí proceduru, je vhodná pro teplotně labilní komponenty, jedná se o automatizovanou proceduru, která nevyžaduje přítomnost organických rozpouštědel, popř. ji minimalizuje. Půdní vzorky před analýzou jsou usušeny při 40 °C, prosítovány (velikost zrn 500 μm) a udržovány při 4 °C. Extrakce se uskutečňuje v Inscó SFE Systému (Inscó Europe, Hengoed, UK), který se skládá z superkritického kapalinového extraktoru SFX 220, z kontroléru SFX 200, dvou pump (model 260 D) a z omezovače teploty. Omezovač teploty je nastaven na 90 °C, extrakční komora je tvořena nerezovou nádobkou o objemu 2,5 ml, která pojme 2,3 g vzorku s přídatkem anhydričského síranu sodného. Experimentální podmínky extrakce–teplota omezovače, množství rozpouštědla, tlak, teplota, procento složení modifikátoru, extrakční čas a objem superkritické kapaliny jsou nastaveny na maximální operační účinnost. Extrakt se poté rozředí s 12 ml rozpouštědla a odpaří se do sucha v mírném proudu dusíku a rozsutí se octanu ethylnatém. Pro analýzu se injektuje 1 μl vzorku. Analýza se vykoná na plynovém chromatografu s teplotně programovaným injektorem, kapilárními kolonami (30 m x 0,25 mm, 0,25 μm tloušťka filmu) – ChromPack. Teplota injektoru je udržována na 250 °C,

jako nosný plyn a kolizní plyn (pro iontovou past) se používá helium s rychlostí toku 1 ml/min. Teplotní program pro analýzu je následující – počáteční teplota 80 °C (udržována 2 min.), rychlost zvyšování teploty 15 °C/min. až do dosažení 180 °C (zdržení 4 min.), poté rychlost růstu teploty 7 °C/min do 220 °C (udržování 6 min.), nakonec rychlost zvyšování teploty 20 °C/min. do 290 °C (zdržení 1 min.). Detekce pesticidů probíhá pomocí iontové pasti hmotnostního spektrometru (Saturn 2000) s elektronovou nárazovou ionizací a MS-MS fragmentací iontů. Axiální modulační amplituda napětí je 3,7 V pro optimální rozlišení a napětí elektronového násobiče je 1 800 V. Touto technikou lze kromě výše vyjmenovaných pesticidů stanovit i rezidua atrazinu, lindan, metolachlor, pendimethalin, endosíran, rezidua DDT, metalaxyl, quinafos, prokymidon, benalaxyl. Detekční limity pro jednotlivé látky jsou následující: Atrazin je 0,5 µg/kg,alachlor 0,3 µg/kg, chlorpyrifos 0,1 µg/kg, endosíran 0,6 µg/kg, dieldrin 0,4 µg/kg.

Gonçalves C., Alpendurada M.F. (2005): Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography-mass spectrometry, Talanta 65, 1179-1189.

Metodika je aplikovatelná pro stanovení netěkavých a polotěkavých (semivolatilních) organických komponent (pesticidů) z půd, kalů a odpadů. 5 g vzorku se umístí do Erlenmeyerovy baňky přidá se vhodné organické rozpouštědlo, vzorky se nejdříve manuálně protřepou, a poté se vloží do ultrazvukové lázně na 15 min. Extrakce se opakuje třikrát, po každé extrakci se vzorek filtruje s částí anhydričského síranu sodného. Konečný extrakt se poté odpaří do sucha mírným proudem dusíku a odparek se rozpustí ve 200 µl octanu ethylatého. Chromatografická analýza se uskutečňuje na GC/MS s kapilárními kolonami naplněnými SiO₂ (30 m x 0,25 mm, tloušťka filmu 0,25 µm) a nosným plynem heliem s rychlostí toku 1 ml/min. Injekční teplota je nastavena na 250 °C, injektuje se 1 µl vzorku. MS podmínky – teplota iontového zdroje 230 °C, teplota kvadrupólu 150 °C, teplota transferové linie 280 °C. Touto metodou lze kvantifikovat až 44 pesticidů při následujících podmínkách: počáteční teplota 80 °C (udržování 2 min.), rychlost zvyšování teploty 15 °C/min. do 180 °C (zdržení 4 min.), poté rychlost zvyšování 10 °C/min do dosažení 230 °C (zdržení 5 min.) a konečné zvýšení s rychlostí 10 °C/min. do 290 °C (doba zdržení 5 min.). Kvantifikace je provedena v selektivním iontovém módu (SIM).

Přehled pesticidů a jejich metabolitů, které lze stanovit – dichlorvos, desethylatrazin, hexachlorbenzen, dimethoat, simazin, atrazin, propazin, lindan, terbuthylazin, propyzamid, fonofos, diazinon, metribuzin, methylparthion, simetryn,alachlor, heptachlor, fenitrothion, malathion, metolachlor, aldrin, chlorpyrifos, ethylparathion, isodrin, chlorfenvinfos, pendimethalin, epoxyheptachlor, chlofenvinfos Z, prokymidon, γ-chlordan, tetrachlorvinfos, endosíran I, fenamifos, 4,4'-DDE, 4, 4'-DDE, dieldrin, endrin, endosíran II, sulfát endosíranu, methylazinfos, deltamethrin, α-kypermethin, λ-kyhalotrin, deltamethrin.

Richter P., Sepúlveda B., Oliva R., Calderón K., Seguel R., 2003. Screening and determination of pesticides in soil using continuous subcritical water extraction and gas chromatography-mass spectrometry, Journal of Chromatography A, 994, 169-177.

Vzorek půdy je před extrakcí usušen na vzduchu, prosítován na velikost zrn 2 mm a homogenizován. Uchováván je v tmavých láhvích, nejlépe při 4 °C. 300 mg půdního vzorku se umístí do extrakční komůrky umístěné uvnitř hliníkové komory – pece, která je spojena s tepelným zařízením umístěným na horní části komory (je elektronicky kontrolována termočlánkem, dokud není dosažena teplota 270 °C). Poté je voda pumpována systémem k extrahování analytu z půdy při rychlosti toku 2 ml/min po dobu 25 nebo 90 min. Po superkritické extrakci jsou pesticidy ve vodné fázi transferovány pro uskutečnění extrakce kapalina-kapalina s 5 ml dichlorethanu před analýzou GC/MS. Obsahy jednotlivých pesticidů jsou vyhodnoceny na základě interní kalibrace za použití standardů.

Vryzas Z., Tsaboula A., Papadopoulou-Mourkidou E. (2007): Determination ofalachlor, metolachlor and their acid metabolites in soil by microwave-assisted extraction (MAE) combined with solid phase extraction (SPE) coupled with GC-MS and HPLV-UV analysis. Journal of Separation Science. V.30, 2529-2538.

Extrakce byla prováděna MAE po dobu 20 minut při teplotě 100 °C za použití 50 ml rozpouštědla (metanol/voda = 1:1). Extrakt byl veden přes kolonu C18. Mez detekce metody se pohybovala mezi 5 – 10 µg/kg sušiny, obsah organického uhlíku TOC neměl vliv na mez detekce ani výtěžnost. Výtěžnost metody byla > 71 %.

Literatura

- Ferrero I., Thurman E.M., Barcelo S.(1997): Identification of ionic chloroacetanilide herbicide metabolites in surface water and groundwater by HPLC/MS using negative ion spray. *Analytical Chemistry* 69, 4547-4553.
- Kang H.S., Gye M.C., Kim M.K., 2005. Effects of Alachlor on survival and Development of *Bombina orientalis* (Boulenger) Embryos. *Bull. Environ.Contam.Toxicol.*74, 1199-1206.
- Koskinen W.C., Mulla D.J., Oliveria R.S., Khakural B.R. and Robert P.C., 2003. Spatial variability of herbicide sorption on soil. *Terrestrial field dissipation studies: Purpose, design and interpretation*, ACE Symposium Series 842, 88-101.
- Lesan H.M. and Bhadari A., 2004. Contact –time-dependt atrazine residue formation in surface soils, *Water Research* 38, 4435-4445.
- Ribas G., Surralles J., Carbonell E., Ramena N, Creus A., Marcos R., 1996. Genotoxicity of the herbicides alachlor and maleic hydrazide in cultured human lymphocytes. *Mutagenesis* 11, 221-329.
- Schwab A.P., Splichal P.A. and Banks M.K., 2006. Adsorption of atrazine and alachlor to aquifer material and soil, *Water, Air and Soil Pollution* 177, 119-134.
- Singh K., P., Malik A., Sinha S., 2007. Persistent organochlorine pesticide residues in soil and surface water of nothern Indo-Gangetic alluvial plains, *Environ.Monit.Assess.* 125, 147-155 pp.
- Standard practice for preparation of sediment samples for chemical analysis ASTM D 3976 2001.
- Surralles J., Ramena N, Creus A.,, Narcis R., 1995. The suitability of the micronucleus essay in human lymphocytes a new biomarker of excision repair. *Mutant Res.*32, 43-59 pp.
- Weber J.B. and Peter C.J., 1982. Adsorption, bioactivity and evaluation of soil tests for alachlor, acetochlor and metolachlor. *Weed Science* 30, 14-20 pp.