

UDK 66.061.35.632.95.024

Superkritična ekstrakcija organohlornih pesticida iz vode

- Prethodno saopštenje -

Mira PUCAREVIĆ, Jordana RALEV i Tijana ZEREMSKI ŠKORIĆ
Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad,
Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad

Izvod: U ovom radu su upoređeni prinosi čvrsto fazne ekstrakcije i superkritične ekstrakcije pesticida iz vode. U 1 dm³ dejonizovane vode dodata je mešavina lindana i njegovih metabolita u koncentraciji od 2,25 ng/dm³ za svaki analit. Ekstrakcija vode je izvedena upotrebom C-18 ekstrakcionih diskova. Analiti su sa diska eluirani na dva načina: 1) eluat dobijen upotrebom rastvarača uparen je do suva i ponovo rastvoren u acetonu, i 2) elucija sa superkritičnim fluidom (CO₂). Dobijeni ekstrakti su analizirani upotrebom GC-ECD i internog standarda. Prinosi dobijeni superkritičnom ekstrakcijom su značajno viši od prinosa dobijenih eluiranjem analita pomoću rastvarača.

Ključne reči: Čvrsto fazna ekstrakcija, lindan, ostaci, pesticidi, podzemna voda superkritična ekstrakcija.

Uvod

Lindan ili heksahlorocikloheksan (HCH) spada u grupu organohlornih insekticida. Četiri od ukupno osam izomera HCH se najčešće nalaze kao ostaci u životnoj sredini: α -HCH, β -HCH, γ -HCH i δ -HCH. U našoj zemlji u poljoprivredi je upotrebi pod različitim nazivima: Bevedan 20 EC, Lindan EC-20, Lindan E-20, Lindan-20 i Lindan-EC. Koristi se za suzbijanje insekata u voćnjacima, šumama i ratarskim usevima, a koristi se i kao zemljišni insekticid. Njegova upotreba je zabranjena u kraškim poljima, na izrazito erozivnim površinama i površinama koje služe za skupljanje pitke vode, *Mitić*, 2002.

Zbog svoje veoma izražene stabilnosti u različitim uslovima lindan se može naći u zemljištu, vazduhu, podzemnoj i nadzemnoj vodi, *Tomlin*, 1997.

Pesticide prisutne u ostacima u nekom matriksu je potrebno najpre izdvojiti,

a zatim prečistiti i koncentrisati. Sve ove operacije su dugotrajne što neminovno dovodi do umanjenja prinosa ekstrakcije, a time i povišenja granice detekcije. Razvoj novih metoda ide u pravcu automatizacije jer manja manipulacija uzorkom znači da su rezultati pouzdaniji, sama analiza je brža i jeftinija *Schuster* i *Gratzfeld-Husgen*, 1994, *Soniassy i sar.*, 1994, *David i sar.*, 1993.

U ovom radu je ispitana metoda disk ekstrakcije HCH-metabolita iz model rastvora praćena desorpcijom ugljendioksidom u superkritičnom stanju.

Materijal i metode

Za sva ispitivanja korišćena je bunarska voda i Riedel de Haen HCH-metaboliti. Metaboliti su rastvoreni u metanolu i razblaženi na koncentraciju 2,25 ng/cm³. Ova koncentracija je upotrebljena za određivanje prinosa metode. Za kalibraciju su upotrebljene koncentracije od 1 do 5 ng/cm³. Za disk ekstrakciju su korišćeni Supelko ENVI-Diskovi sa C-18 fazom, prečnika 47 mm. Ekstrakcija superkritičnim ugljendioksidom je izvedena pomoću HP 7680A ekstraktora. Analiza dobijenih ekstrakata izvedena je na gasnom hromatografu HP 5890 serija II opremljenom EC-detektorom i autoinjektorom. Za hromatografsko razdvajanje korišćena je kolona Ultra 1, 30 m x 0,30 mm. Korišćen je helijum kao gas nosač uz protok 1 ml/min. Split odnos je bio 1:20.

Postupak ekstrakcije. Za sva ispitivanja, izvedena u tri ponavljanja, korišćena je bunarska voda. U jedan litar vode uzete iz bunara dodato je po 2,25 ng α -HCH, β -HCH, γ -HCH i δ -HCH. Diskovi sa C-18 fazom su kondicionirani sa 5 cm³ vode i 5 cm³ metanola. Voda sa dodatim HCH-metabolitima je propuštena kroz disk primenom vakuuma. Ostvaren je protok od 150 cm³/min. Diskovi su nakon ekstrakcije osušeni pod vakuumom.

Diskovi su nakon sušenja ekstrahovani primenom rastvarača i ugljendioksida u superkritičnom stanju.

Ekstrakcija rastvaračima. Analiti vezani na disku su eluirani primenom acetona, metanola i metilenhlorida. Dobijeni ekstrakti su upareni do suva u rotacionom vakuum uparivaču na temperaturi od 50 °C i ponovo rastvoreni u 1 ml acetona. Ovi ekstrakti su analizirani na gasnom hromatografu sa EC detektorom

Ekstrakcija analita sa diskova pomoću ugljendioksida u superkritičnom stanju. Ova ekstrakcija je izvedena pod sledećim uslovima:

- Gustina fluida	0,85 g/cm ³
- Pritisak u ekstrakcionoj komori	240 bara
- Protok fluida	1 cm ³ /min
- Temperatura ekstrakcione komore	45 °C
- Dužina statičke ekstrakcije	10 min.
- Dužina dinamičke ekstrakcije	30 min.
- Rastvarač za eluiranje	metanol

Analiza gasnom hromatografijom. Sve analize prinosa su izvedene primenom kalibracione krive. Analizirane koncentracije su u granicama linearnog odgovora detektora. U Tabeli 1 su prikazani koeficijenti linearnih zavisnosti odgovora detektora od količine HCH-metabolita zajedno sa koeficijentima korelacije.

Tabela 1. Kalibracione krive za svaki ispitivani metabolit sa ostvarenim koeficijentom korelacije
Calibration Curves for each Observed Metabolite with Obtained Coefficients of Correlation

Analit - Analite	Odsečak - Segment	Nagib - Inclination	Koeficijent korelacije Coefficient of correlation
Alfa BHC	0.013806	7.62E-08	0.916572
Beta BHC	0.028418	1.23E-07	0.931577
Gama BHC	0.001869	1.17E-07	0.934267
Delta BHC	0.025536	4.52E-08	0.954747

Rezultati i diskusija

Ekstrakcija rastvaračima. U Tabeli 2 prikazani su prinosi HCH-metabolita ostvareni disk ekstrakcijom i praćeni desorpcijom analita primenom različitih rastvarača. Analizom rezultata može se zapaziti da su prinosi dobijeni eluiranjem analita sa diska primenom acetona viši u odnosu na prinose dobijene upotrebom metilen hlorida. Takođe se može zaključiti da su prinosi pojedinih HCH-metabolita različiti i da je prinos za beta-HCH najviši u odnosu na ostale metabolite

Tabela 2. Prinosi disk ekstrakcije prećene eluciom acetonom, metanolom i metilen hloridom (%)
Recoveries of Solid Phase Disk Extraction Followed by Elution with Acetone, Methanole and Methyl Chloride (%)

Rastvarač Solvent	Metabolit Metabolite	Ponavljjanje - Replicates			\bar{X} %	s.d.
		I (%)	II (%)	III (%)		
Aceton Acetone	Alfa BHC	52,4	48,6	38,2	46,4	6,0
	Beta BHC	63,8	71,2	68,5	67,8	3,1
	Gama BHC	28,3	26,5	20,6	25,1	3,3
	Delta BHC	86,5	75,3	69,8	77,2	6,9
Metanol Methanol	Alfa BHC	50,3	40,3	29,5	40,0	8,5
	Beta BHC	52,3	69,2	65,2	62,2	7,2
	Gama BHC	25,6	23,4	19,5	22,8	2,5
	Delta BHC	85,6	74,9	70,2	76,9	6,4
Metilenhlorid Methylene chloride	Alfa BHC	2,5	0,0	5,6	2,7	2,3
	Beta BHC	15,2	14,0	23,0	17,4	4,0
	Gama BHC	6,0	8,0	0,0	4,7	3,4
	Delta BHC	32,0	25,0	18,0	25,0	5,7

za sva tri ispitana rastvarača. Ekstrakti dobijeni primenom metanola su opterećeni koeluirajućim materijama, jer je metanol polaran rastvarač velike moći rastvaranja. Hromatogrami metanolnih ekstrakata su opterećeni šumom pikova koji interferiraju sa pikovima HCH-metabolita. Takođe je bitno naglasiti da je uparavanje metanolnog ekstrakta trajalo dva sata, acetonskog 35 minuta, a metilen hloridnog samo 10 minuta. Metilen hlorid je dao neprihvatljivo niske prinose sva četiri ispitana jedinjenja.

Takođe je izvedena i slepa proba gde je ekstrahovan uzorak podzemne vode bez dodataka HCH-metabolita. Na hromatogramu se vide neidentifikovani pikovi jedinjenja prisutnih u podzemnoj vodi. Pošto je podzemna voda uzeta iz bunara iz koga voda sama ističe pod pritiskom sa dubine veće od 100 m, možemo tvrditi da prisutna jedinjenja nisu ostaci pesticida.

Pošto je voda kroz disk proticala primenom vakuuma koji proizvodi vodena vakuum pumpa, protoci vode kroz disk nisu bili konstantni što je takođe uticalo na visinu prinosa disk ekstrakcije. Isti faktor je imao uticaj i na prinose ekstrakcije sa CO₂ prikazane u Tabeli 3.

Tabela 3. *Prinosi HCH-metabolita ostvareni eluiranjem sa CO₂*
Recoveries of HCH-Methabolites Obtained by Eluation with CO₂

Anabolit Anabolite	Ponavljanje - Replicates			\bar{X} %	s.d.
	I (%)	II (%)	III (%)		
Alfa BHC	93,7	87,6	96,5	92,6	3,7
Beta BHC	103,7	97,2	103,3	101,4	3,0
Gama BHC	82,9	71,8	84,6	79,8	5,7
Delta BHC	99,7	96,2	98,7	98,2	1,5

U Tabeli 3 su prikazani prinosi tri ponovljene ekstrakcije superkritičnim CO₂. Prinosi beta-HCH su viši od 100 %, jer je verovatno došlo do interferiranja sa koeluirajućim jedinjenjima. Prinosi gama-HCH se kreću od 71,8 do 84,6 i niži su od prinosa ostala tri metabolita. Prinosi alfa i delta HCH su zadovoljavajuće visoki. Superkritična ekstrakcija ima dobru reproduktivnost za šta su dokaz i niske standardne devijacije rezultata ponovljenih ekstrakcija za sva ispitana jedinjenja.

Zaključak

CO₂ u superkritičnom stanju predstavlja dobar rastvarač za HCH-metabolite.

Prinosi HCH-metabolita ostvareni primenom SF desorpcije su viši nego prinosi dobijeni eluiranjem pomoću rastvarača.

SF desorpcijom dobijeni su čistiji ekstrakti podzemne vode.

Potrošnja rastvarača je kod SF ekstrakcije značajno manja - za ceo postupak

potrebno je utrošiti 3 ml elucionog rastvarača.

Proces superkritične ekstrakcije je kompjuterski kontrolisan, a svi parametri ekstrakcije se pamte i mogu se sa sigurnošću reprodukovati.

Kod upotrebe CO₂ nema koraka vakuuma uparavanja koji može značajno da umanji prinose lako isparljivih jedinjenja.

Korak propuštanja vode kroz ekstrakcioni disk je ključan za ostvarenje visokog prinosa. Za reproduktivne rezultate potrebno je koristiti električnu vakuum pumpu koja obezbeđuje konstantan potpritisak.

Ceo postupak, uključujući disk ekstrakciju i superkritičnu desorpciju, traje oko jedan sat što predstavlja značajnu uštedu vremena.

Kontakt osoblja sa organskim rastvaračima je minimalan, što je značajno kada se ima u vidu da laboranti ceo radni vek provedu u kontaktu sa opasnim hemikalijama.

Literatura

David, F., P. Sandra, S.S. Stafford and B. Slavica (1993): Improved sensitivity for the analysis of organochlorine pesticides by CGC-ECD using pressure-pulsed splitless injection. HP Application Note 228-222: 1-8.

Mitić, N.V. (2002): Pesticidi u poljoprivredi i šumarstvu u Jugoslaviji, izd. Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd, XIV: 360-365,

Schuster, R. and **A. Gratzfeld-Husgen** (1994): HPLC analysis of pesticide traces in the ppt-range. HP Application Note 12-5952-1550: 1-8.

Soniassy, R., P. Sandra and C. Schlett. (1994): Water analysis. HP Part No. 5962-6216E.

Tomlin, C.D.S. (1997): The Pesticide Manual, 10th edition, ed. British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, U.K.

Primljeno: 06.11.2003.

Odobreno: 26.12.2003.

* *
*

Supercritical Extraction of Organochlorine Pesticides from Water

- Brief communication -

Mira PUCAREVIĆ, Jordana RALEV and Tijana ZEREMSKI ŠKORIĆ
Institut for Field and Vegetable Crops, Novi Sad

Summary

Recoveries of solid phase disk extraction and supercritical fluid extraction of natural groundwater samples were compared in this study. Deionised water sample (1 dm³) was spiked with a mix of lindan (γ -HCH) and its metabolites (α -HCH, β -HCH, δ -HCH) at level of 2.25 ng l⁻¹ of each component. Extraction of spiked groundwater was performed by C-18 solid phase disks. Captured analytes were eluted from the disk in two different ways: 1) eluate obtained by the use of a solvent was evaporated to dryness and then again dissolved in acetone and 2) elution with supercritical fluid (CO₂).

Extracts were analysed by GC-ECD and an internal standard. Recoveries of extracts achieved with supercritical elution were much better than those with classical elution with a solvent.

Received: 06/11/2003

Accepted: 26/12/2003

Adresa autora:

Mira PUCAREVIĆ
Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo
Maksima Gorkog 30
21000 Novi Sad
Srbija i Crna Gora
e-mail: pucarevic@ifvcns.ns.ac.yu