

OPTIMALIZACE ANALYTICKÉ METODY PRO MULTISCREENING PESTICIDŮ V ROSTLINNÉM MATERIÁLU

Stanislava Vrchovecká <stanislava.vrchovecka@tul.cz>, prof. Dr. Ing. Miroslav Černík, CSc.

Tato práce se zabývá vývojem a optimalizací analytických postupů, které umožní kvalitativní i kvantitativní stanovení pesticidů a jejich relevantních metabolitů v rostlinné matrici. Cílem procesu je získat analytickou metodu s odpovídající výtěžností a reprodukovatelností, která bude poskytovat přesné a správné výsledky. Tato metoda bude následně využita pro hodnocení možného využití fyto-screeningových metod pro detekci a monitoring znečištění podzemních vod, případně pro zlepšení ochrany vodních zdrojů.

Klíčová slova: pesticidy, multiscreening, SPE, QuEChERS, fyto-screening

ÚVOD

Pesticidy představují rozsáhlou skupinu organických látek používaných k ochraně a zvýšení zemědělské produkce. S rostoucí zemědělskou aktivitou zároveň stoupá využití těchto látek. Podle Organizace pro výživu a zemědělství bylo v roce 2020 celosvětově použito skoro 7,1 milionu tun pesticidů, což představuje téměř pětinašobný nárůst oproti roku 1990[1]. Přestože aplikace těchto látek je cíleně prováděna na zemědělské plochy, stopová množství lze nalézt ve všech kompartmentech životního prostředí (povrchové vody, půdy, vegetace) vzhledem k perzistenci a mobilitě parentních látek a degradačních metabolitů[2]. Pesticidy zároveň představují hlavní příčinu znečištění podzemních vod, čímž diskvalifikují tento vodní zdroj z vodárenského využití, případně zvyšují technickou i finanční náročnost úpravy podzemní vody na vodu pitnou. Což je problematické vzhledem k tomu, že v ČR pochází přibližně 50 % pitné vody z podzemních zdrojů. Jednou z možností jak předejít kontaminaci podzemních vod jsou ochranná pásma vodních zdrojů. Jejich velikost je většinou určena na základě hydrogeologických poměrů, což nemusí být v některých případech dostačující. Doplnující metodou pro detekci a monitoring rozsahu znečištění může být pak fyto-screening. Principem této metody je příjem kontaminované podzemní vody kořenovým systémem vegetace a její transport transpiračním proudem do nadzemních částí jako kompenzace transpirace rostlin[3]. Pro úspěšnou detekci pesticidů a vybraných metabolitů v rostlinné matrici je zapotřebí zavést analytické metody poskytující správné, přesné a opakovatelné výsledky. Jelikož rostliny představují chemicky složitou a komplexní matici obsahující řadu látek, které mohou stanovení ovlivnit, je klíčovým prvkem příprava vzorků. Získané extrakty se následně analyzují nejčastěji pomocí HPLC-HRMS systémů.

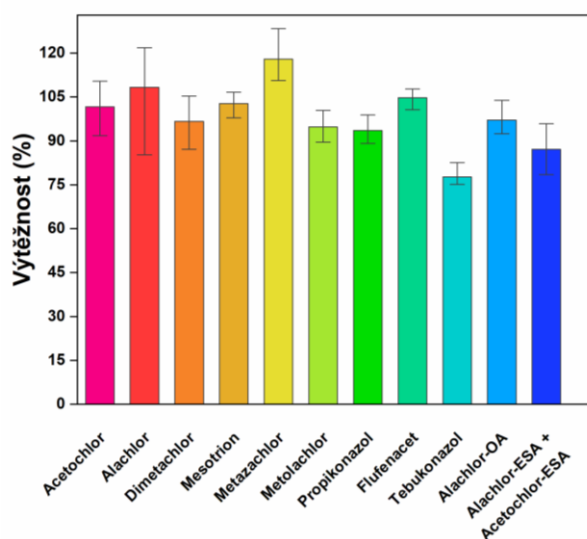
METODIKA

Příprava vzorků pro stanovení organických molekul ve složité matrici zahrnuje: 1) extrakci analytů do vhodného rozpouštědla; 2) přečištění extraktů; 3) odpaření a znovurozpuštění v rozpouštědle, které je kompatibilní s následující HPLC-HRMS analýzou. V ideálním případě první dva kroky zaručují získání extraktů obsahující pouze kvantitativně extrahované pesticidy a jejich metabolity bez přítomnosti rušivých matričních látek. Při využití multiscreeningových metod, kdy v jednom metodě je analyzován velký počet analytů, je problematické nastavení kroků 1) a 2) vzhledem k odlišným fyzikálně-chemickým vlastnostem analytů. Je snaha vyvinout metodu, která bude univerzální (pro široké spektrum hledaných pesticidů) a zároveň selektivní (minimalizace koextrakce ostatních látek pro snížení matričních efektů) s dobrou výtěžností a reprodukovatelností. Většinu těchto podmínek splňuje přístup QuEChERS (ang. Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe). Jedná se o kombinaci extrakce do organického rozpouštědla následované disperzní extrakcí na tuhou fázi (dSPE). Druhou metodou je samotná SPE s využitím různých typů sorbentů. Cílem této práce bylo vybrat a optimalizovat metodu pro multiscreening pesticidů a vybraných metabolitů (celkem 22 látek) v rostlinném materiálu. Konkrétně byly sledovány zástupci fungicidů i herbicidů (chloracetanilidové pesticidy a jejich metabolity, triketony, benzodiathiazoly aj.)

VÝSLEDKY A DISKUZE

V první fázi bylo vybráno vhodné rozpouštědlo pro krok 1. Jako vhodné rozpouštědlo byl zvolen čistý acetonitril vzhledem k jeho kompatibilitě s QuEChERS metodou a také proto, že použití metanolu není vhodné, protože dochází ke zvýšené extrakci matričních látek, jelikož se jedná o rozpouštědlo s vyšší eluční silou. Pro krok 2) byla zvolena QuEChERS metoda obsahující Chlorofiltr - selektivní sorbent

pro odstranění chlorofylu z extraktu. Tato metoda ovšem nebyla vhodná pro polární, aromatické pesticidy. Pravděpodobně zde docházelo k vazbě těchto pesticidů na výše zmíněný Chlorofiltr a metoda poskytovala téměř nulové výtěžnosti. Současně nebylo vhodné využít tuto metodu pro stanovení metabolitů chloracetanilidových pesticidů a to vzhledem k využití pufrů a ovlivnění pH. Pro tyto problematické látky byl zvolen odlišný způsob přečištění extraktů a to konvenční SPE pomocí HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balanced) sorbentu. U obou metod byly následně provedeny experimenty pro zjištění výtěžnosti a reprodukovatelnosti.



Obr. 1: Výtěžnost pro část sledovaných pesticidů a metabolitů na nejnižší koncentrační úrovni v triplikátu

Výtěžnost obou metod byla hodnocena na třech koncentračních úrovních v triplikátech. Akceptovatelné rozmezí výsledků bylo mezi 70 - 130 %, přičemž v tomto rozsahu byly výsledky pro všechny analyty v požadovaném rozsahu. Reprodukovatelnost metod byla hodnocena pomocí RSD, která musela být \leq než 20 %. Tuto podmínku splňovaly také obě metody. Obě optimalizované metody byly následně použity pro stanovení reziduí pesticidů v různých rostlinných kompartmentech topolů černých hydroponicky pěstovaných v roztocích pesticidů.



Obr. 2: Vizuální rozdíl mezi vzorky kořenů (R), stonků (T) a listů (L) po přečištění pomocí QuEChERS (dSPE) a HLB metody; DI(PN) - vzorek bez přečištění

Z uvedeného Obr. 2 je patrné, že vzorky bez přečištění obsahují nejvíce matričních látek způsobující zabarvení extraktu (chlorofyl, karotenoidy, polyfenolické látky aj.). Obě metody pužité pro přečištění odstraní část těchto látek, čímž sníží vlivy matrice. Přesto však dochází k negativnímu ovlivnění analýzy zbylými komponenty a to vlivem snížení ionizace pesticidů a potlačení odezvy MS detektoru v průměru o 40 %.

ZÁVĚR

- Nelze využít jednu metodu pro všechny analyty vzhledem k rozdílným fyzikálně-chemickým vlastnostem.
- Získání 2 optimalizovaných metod s požadovanou výtěžností a reprodukovatelností pro přečištění analytických vzorků.
- Použití QuEChERS i HLB SPE sníží koncentraci rušivých látek v průměru o 60 %.
- Zvýšení čistoty vzorků je zároveň šetrnější k přístrojovému uspořádání.
- Limity detekce a kvantifikace pro analyzované pesticidy v rostlinné matrici jsou o 40 % vyšší než při měření pesticidů v čistém rozpouštědle.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce byla podpořena z projektu Studentské grantové soutěže (SGS) na Technické univerzitě v Liberci v roce 2023.

REFERENCE

- [1] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, FAOSTAT [online] [vid. 2023-07-03]. Dostupné z: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RT>
- [2] BARCHANSKA, Hanna, Aleksandra KLUZA, Karolina KRAJCZEWSKA a Joanna MAJ, 2016. Degradation study of mesotrione and other triketone herbicides on soils and sediments. *Journal of Soils and Sediments* [online]. 16(1), 125–133. ISSN 1614-7480. Dostupné z: doi:10.1007/s11368-015-1188-1
- [3] SOREK, A., N. ATZMON, O. DAHAN, Z. GERSTL, L. KUSHISIN, Y. LAOR, U. MINGELGRIN, A. NASSER, D. RONEN, L. TSECHANSKY, N. WEISBROD a E. R. GRABER, 2008. "Phytoscreening": The Use of Trees for Discovering Subsurface Contamination by VOCs. *Environmental Science & Technology* [online]. 42(2), 536–542. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/es072014b