



VILNIAUS UNIVERSITETAS  
CHEMIJOS FAKULTETAS  
ANALIZINĖS IR APLINKOS CHEMIJOS KATEDRA

Rasa Karalkevičienė

Pagrindinių studijų programa Chemija – 2 kursas

**CHLORO ORGANINIŲ PESTICIDŲ EKSTRAKCIJOS METODŲ  
TYRIMAS**

Magistro studijų baigiamasis darbas

Darbo vadovas: Prof. (HP) dr. Vida Vičkačkaitė  
(Vadovo mokslinis laipsnis, mokslo pedagoginis vardas, vardas, pavardė)

Įvertinimas: \_\_\_\_\_  
(Data, įvertinimas, parašas)

Vilnius, 2016

# TURINYS

SANTRUMPOS .....	3
ĮVADAS .....	4
1. LITERATŪROS APŽVALGA .....	6
1.1. Chloro organinių pesticidų savybės ir paplitimas.....	6
1.2. Klasikiniai chloro organinių pesticidų ekstrakcijos iš vandeninių tirpalų metodai.....	12
1.3. Chloro organinių pesticidų dispersinė skysčių-skysčių mikroekstrakcija.....	14
1.4. Keičiamo hidrofiliškumo tirpikliai .....	15
2. EKSPERIMENTO METODIKA .....	17
2.1. Reagentai ir tirpalai .....	17
2.2. Aparatūra .....	18
2.3. Dujų chromatografinės sąlygos .....	18
2.4. Skysčių-skysčių ekstrakcijos procedūra .....	19
2.5. Dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos procedūra .....	20
2.6. Ekstrakcijos su keičiamo hidrofiliškumo tirpikliais procedūra .....	20
2.7. Analizės rezultatų įvertinimas .....	20
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS.....	23
3.1. Chloro organinių pesticidų skysčių-skysčių ekstrakcija.....	23
3.2. Chloro organinių pesticidų dispersinė skysčių-skysčių mikroekstrakcija.....	27
3.3. Chloro organinių pesticidų ekstrakcija su keičiamo hidrofiliškumo tirpikliais.....	36
3.4. Klasikinės skysčių-skysčių ekstrakcijos ir dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos palyginimas.....	38
IŠVADOS .....	39
SUMMARY .....	40
PADĖKA .....	41
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	42

## SANTRUMPOS

- COP – chloro organiniai pesticidai  
DCh – dujų chromatografija  
DDD – dichlordifenildichloretanas  
DDE – dichlordifenildichloretilenas  
DDT – dichlordifeniltrichloretanas  
DSSME – dispersinė skysčių-skysčių mikroekstrakcija  
ECD – elektronų gaudymo detektorius  
EPA – Aplinkos apsaugos agentūra (angl. *Environmental Protection Agency*)  
HCB – heksachlorbenzenas  
 $\gamma$ -HCH – gama heksachlorcikloheksanas (lindanas)  
HEOD – dieldrinas  
HHDN – aldrinas  
HPLC – didelio efektyvumo (slėgio) skysčių chromatografija  
(angl. *High Performance (Pressure) Liquid Chromatography*)  
IUPAC – Tarptautinė teorinės ir taikomosios chemijos sąjunga (angl. *International Union of Pure and Applied Chemistry*)  
KHT – keičiamo hidrofiliškumo tirpikliai  
KFE – kietafazė ekstrakcija  
MS – masių spektrometrija  
PeCB – penchlorbenzenas  
POT – patvarūs organiniai teršalai  
RPTLC – Plonasluoksnė atvirkštinės fazės chromatografija (angl. *Reversed Phase Thin Layer Chromatography*)

## ĮVADAS

Kasmet šimtai naujų cheminių medžiagų patenka į prekybą ir galiausiai į aplinką. Nemažai naujų ir jau naudojamų junginių yra toksiški biosferai. Didžiausią susirūpinimą kelia tie junginiai, kurie dėl taikymo pobūdžio dideliais kiekiais patenka į aplinką. Žemės ūkyje ir pramonėje naudojami pesticidai yra tokių junginių pavyzdys. Pesticidai dažniausiai aptinkami dirvoje, upėse, ežeruose, kituose vandens telkiniuose ir net geriamajame vandenyje [1].

Pesticidai naudojami daug šimtmečių, pirmąkart paminėti VIII a. pr. Kr., kaip pasėlių apsaugos priemonė. XV–XIX a. buvo plačiai naudojami sieros, arseno, gyvsidabrio, vario ir kiti junginiai, kaip fungicidai ir insekticidai, saugantys vaisius ir daržoves nuo kenkėjų. XX a. ketvirtame dešimtmetyje buvo nustatytos dichlordifeniltrichloretano (DDT) ir kitų chlorintųjų angliavandenilių, pvz.,  $\alpha$ -1,2,3,4,5,6-heksachlorcikloheksano ( $\alpha$ -HCH), insekticidinės savybės, jie pradėti plačiai naudoti XX a. šeštame–septintame dešimtmėčiais. Chloro organinius pesticidus (COP) DDT, alfa-HCH, dieldriną, aldriną entuziastingai priėmė ūkininkai, tikėdamiesi išspręsti vabzdžių keliamas problemas ir manydami, kad siūlomos medžiagos daug saugesnės nei sieros ir arseno junginiai [2].

Amerikos Aplinkos apsaugos agentūra pesticidus apibrėžia kaip *bet kokią medžiagą ar medžiagų mišinį, skirtą sunaikinti bet kokią kenkėją ar sumažinti jo atsparumą*. Dažnai klystama pesticidus siejant tik su insekticidais. Terminas *pesticidas* taikomas tiek herbicidams, tiek fungicidams, tiek ir kitoms medžiagoms, skirtoms kovai su nepageidaujama organizmais, kenkėjais. Pesticidų sudėtyje yra aktyvių ir inertiškų sudedamųjų dalių. Aktyviosios, kitaip – veikliosios, medžiagos naikina kenkėjus, o inertiškosios padeda efektyviau veikti aktyviosioms. Pagal paskirtį svarbiausios sintetinių pesticidų grupės yra insekticidai, skirti kovai su vabzdžiais, ir herbicidai, naikinantys piktžoles. Paplitę ir kitos pesticidų grupės, pvz., fungicidai, skirti kovai su grybais ir mikrogrybais, rodenticidai – priemonės prieš graužikus, baktericidai – kovai su bakterijomis ir kt. Pesticidai nėra specifiški tik vienai rūšiai. Pesticidai, skirti sunaikinti vienos rūšies kenkėjus, gali sunaikinti ar pakenkti kitiems organizmams, kurie yra labai naudingi ar bent jau pageidaujami. Jie taip pat kenkia žmonėms. Į organizmą pesticidai patenka dėl profesinės veiklos, ūkininkaujant, vartojant užterštą maistą ar gėrimus, įkvėpiant pesticidais užterštą orą. Pesticidai ypač pavojingi vaikams, nes gali ateityje sukelti labai sunkių sveikatos sutrikimų. Pesticidai gali sukelti neurologines ligas, pvz.: atminties praradimą, koordinacijos ir regos sutrikimus, motorinių įgūdžių raidos susilpnėjimą; galimi astmos, alergijos, hiperjautrumo pasireiškimai. Be to, pesticidai pasižymi kancerogeniniu poveikiu, jie gali sutrikdyti hormonų veiklą, sukelti reprodukcinės, imuninės ir endokrininės sistemų pakitimus [3].

2001 m. Stokholme priimta konvencija, kurios pagrindinis tikslas – apsaugoti žmonių sveikatą ir aplinką nuo neigiamo patvariųjų organinių teršalų (POT) poveikio. Konvencijoje reglamentuojami pavojingi chloro organiniai pesticidai: aldrinas, dieldrinas, endrinas, chlordanas, dichlordifeniltrichlormetanas, heptachloras, mireksas, toksafenas, heksachlorbenzenas. Aplinkoje jie gali pasklisti dideliame areale, dėl COP lakumo jie gali būti pernešti į vietas, labai nutolusias nuo jų panaudojimo ir patekimo į aplinką vietas. Šie pesticidai ilgai išlieka aplinkoje nepakitę, atsparūs cheminiam, terminiam ir biocheminiam ardymui. COP ir jų skilimo produktai dabar randami visame pasaulyje.

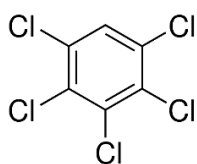
Nuo 1961 m. pesticidų kiekis Lietuvoje sparčiai didėjo. Po 1991 m. pesticidų naudojimas šalyje sumažėjo, tačiau išliko pesticidų saugyklos ir šiomis kenksmingomis medžiagomis užterštos vietovės. Chloro organiniai pesticidai Lietuvoje nebenaudojami jau keletą dešimtmečių, todėl didžiausią pavojų aplinkai ir žmonių sveikatai kelia apleisti ar nepakankamai prižiūrimi pesticidų sandėliai. Pats veiksmingiausias būdas sumažinti COP kiekį organizme – sumažinti šių cheminių medžiagų vartojimą ir visiškai pašalinti šias medžiagas iš mus supančios aplinkos [4, 5].

**Magistrinio darbo tikslas:** ištirti ir palyginti tris chloro organinių pesticidų ekstrakcijos iš vandeninių tirpalų metodus: skysčių-skysčių ekstrakciją, dispersinę skysčių-skysčių mikroekstrakciją, bei homogeninę ekstrakciją kintamo hidrofiliškumo tirpikliais.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Chloro organinių pesticidų savybės ir paplitimas

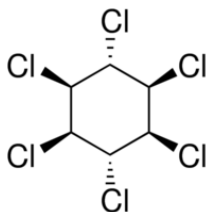
Chloro organiniai pesticidai naudoti, o kai kurie vis dar naudojami kaip plataus veikimo insekticidai, fungicidai, nuodai graužikams naikinti, o taip pat medienos, elektrotechnikos pramonėje. COP – tai medžiagos, kurios blogai tirpsta vandenyje, jų  $\log K_{ow} > 3,0$ . Tai pavojingos sveikatai medžiagos, kurios gali sukelti kepenų, inkstų, skydliaukės vėžį, pažeidžia žmogaus endokrininę bei centrinę nervų sistemą.



Pentachlorbenzenas (PeCB) priklauso chlorbenzenų grupei. Šios grupės junginiams būdingas benzeno žiedas, kuriame vandenilio atomai yra pakeisti vienu ar daugiau chloro atomų [6]. PeCB buvo naudojamas medienos pramonėje kaip fungicidas ir antipirenas (didinantis atsparumą degimui), kaip priedas į skystuosius dielektrikus gaminant elektrotechnikos įrangą, sintetinant augalų apsaugos ir dezinfekcijos priemonę pentachlornitrobenzeną [7]. PeCB gali būti aptinkamas kai kuriuose kituose pesticiduose ir chlorintuosiuose tirpikliuose. Europos Sąjungoje PeCB nebegaminamas nuo 2002 m.

Žmogaus organizme PeCB sutrikdo kepenų, inkstų veiklą, pažeidžia reprodukcinę sistemą. PeCB yra toksiškas vandenyje gyvenantiems organizmams, pažeidžia vandens ekosistemų biologinę įvairovę ir tvarumą.

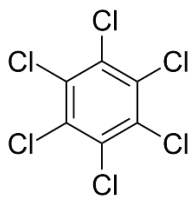
PeCB – balta kristalinė medžiaga; molinė masė – 250,33 g/mol; lydymosi temperatūra + 86 °C; virimo temperatūra +275–277 °C; tirpumas vandenyje 0,18–1,34 mg/l (22–25 °C). PeCB netirpsta etanolyje, šiek tiek tirpsta eteryje, benzene, chloroforme ir anglies disulfide;  $\log K_{ow} = 5,18$  [6–8].



Lindano insekticidinės savybės nustatytos 1935 m. Kaip vabzdžius naikinantis chemikalas, jis buvo plačiai naudojamas kovai su dirvos, miško ir kultūrinių augalų, gyvulių kenkėjais, žmonių parazitais. Kai kuriose Europos sąjungos šalyse lindanas tebenaudojamas kaip kontaktiniai nuodai graužikams naikinti, kaip sudėtinė cheminių pedikulicidų, gydančių utėlėtumą ir niežus, dalis.

Lindanas yra toksiškas; žalingas poveikis gali atsirasti vartojant lindanu užkrėstą maistą ar kvėpuojant juo užterštu oru. Trumpalaikis poveikis įkvėpus užteršto oro – nosies ir gerklės dirginimas; ilgalaikis poveikis pasireiškia nervų, kepenų, širdies ir kraujagyslių bei imuninės sistemos sutrikimais. Lindanas gali sukelti kepenų vėžį [9].

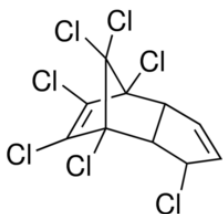
Lindanas – baltos spalvos kristalinė medžiaga; molinė masė – 290,83 g/mol; lydymosi temperatūra +112,5 °C; virimo temperatūra +288 °C; tirpumas vandenyje – 7,3 mg/l (25 °C). Lindanas tirpsta acetone (>200 g/l, 20 °C), metanolyje (29–40 g/l, 20 °C), ksilene (250 g/l, 20 °C), etilo acetate (>200 g/l, 20 °C), n-heptane (10–14 g/l, 20 °C); log K<sub>ow</sub> = 3,72 [8].



Heksachlorbenzenas (HCB) iki 1965 m. buvo plačiai naudojamas kaip fungicidas grūdų pasėliams ir medienai apsaugoti, kaip priedas gaminant pirotechnikos produktus, izoliacines medžiagas, gumą ir kt. Be to, papildomi HCB kiekiai gali susidaryti terminių procesų metu, kaip nevisiškai sudegusių organinių medžiagų jungimosi su chloru produktas. Palyginti didelė HCB susidarymo ir išmetimo į aplinką tikimybė stebima kai kuriose pramonės srityse. HCB emisijos šaltiniai gali būti atliekų deginimo ir cemento krosnys, kuriose deginamos pavojingos atliekos; celiuliozės gamyba, kai naudojamas chloras ir cheminės medžiagos, iš kurių susidaro chloras, skirtas balinimui. HCB emisija stebima terminių procesų metu metalurgijos pramonėje, pvz., geležies ir plieno, antrinėje vario, aliuminio, cinko gamyboje. Be to, HCB susidaro ir patenka į aplinką atvirai deginant atliekas, kūrenant krosnis gyvenamuosiuose rajonuose; eksploatuojant komunalinius ir pramoninius katilus, šildomus malkomis, iškastiniu ir kitokiu biomasės kuru. Prie HCB emisijos šaltinių priskiriami krematoriumai, gyvulių skerdenos atliekų naikinimo įrenginiai, motorinės transporto priemonės, deginančios švino turintį benzina; naftos perdirbimo įmonių atliekos ir kt. [10, 11].

HCB labai atsparus biodestrukcijai, todėl jis ilgai išlieka aplinkoje. Jis sukelia kepenų ligas bei odos pažeidimus. Nėra tiesioginių duomenų, kad žmonėms sukeltų vėžį, tačiau remiantis tyrimais su gyvūnais nustatyta, kad HCB gali sukelti kepenų, skydliaukės bei inkstų vėžinius susirgimus. HCB kaupiasi kūno riebaluose, kur gali išlikti ilgą laiką [8].

HCB – baltos spalvos kristalinė medžiaga; molinė masė – 284,78 g/mol; lydymosi temperatūra +231 °C; virimo temperatūra +325 °C; tirpumas vandenyje –  $4,7 \times 10^{-3}$  mg/l (25 °C). HCB mažai tirpus šaltame etilo alkoholyje, tirpus benzene, chloroforme, eteryje, anglies disulfide; mažai tirpus anglies tetrachloride; log K<sub>ow</sub> = 5,73 [8].

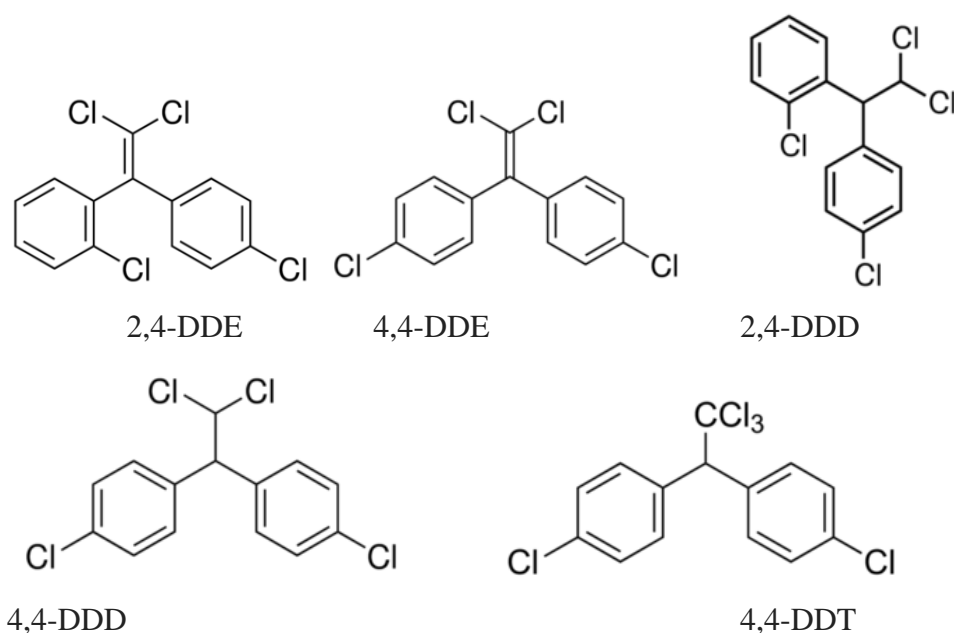


Heptachloras, kaip kontaktinio poveikio insekticidas, buvo naudojamas 1953–1974 m. kovai su termitais, maliariniais uodais, naikinti dirvožemio ir įvairių javų sėklų kenkėjus, apsaugoti nuo skruzdžių, įvairių vabzdžių, jų vikšrų ir lervų tiek žemės ūkyje, tiek ir buityje. Vėliau

heptachloras iš dalies uždraustas, leidžiant jį naudoti tik jėgos transformatoriuose ir priemonėse, skirtose termitų nukenksminimui. Nuo 2004 m. Europos Sąjungos šalyse uždrausta heptachlorą gaminti, parduoti ir naudoti.

Heptachloras gali ilgainiui sukelti neurologinius sutrikimus, dirglumą, seilėtekį, galvos svaigimą, traukulius. Nėra tiesioginių duomenų, kad heptachloras žmonėms sukeltų vėžį, tačiau remiantis tyrimais su gyvūnais nustatyta, kad jis – potencialus vėžio sukėlėjas [10].

Heptachloras – baltos spalvos kristalinė arba vaško konsistencijos medžiaga; molinė masė – 373,3 g/mol; lydymosi temperatūra +95–96 °C; virimo temperatūra +145 °C; tirpumas vandenyje – 0,18 mg/l (25 °C); heptachloras tirpus heksane, eteryje, etilo alkoholyje, benzene, chloroforme ir eteryje, ligroine, anglies disulfide, mažai tirpus anglies tetrachloride; log  $K_{OW}$  = 6,10 [8].



DDT (dichlordifeniltrichlorešanas, 1,1,1-trichlor-2,2-di-(4-chlorfenil)etanas, jo izomerai ir metabolitai, kurie gali sudaryti apie 20–25 % preparato) buvo pirmasis sintetinis insekticidas, kuris 1940 m. pradėtas taikyti maliariniams uodams naikinti. Daugelyje pasaulio šalių DDT buvo labai populiarus insekticidas, taikytas žemės ūkyje, miškininkystėje, buityje, apsaugant nuo kenkėjų javus, daržoves, vaisius, naikinant muses ir utėles. Naudotojų patogumui insekticidas būdavo parduodamas kaip granulės, kaip tirpalas ksilene, rūkstančių žvakių ir aerozolių pavidalo. Šiuo metu preparatas nebegaminamas, daugiau kaip 25 metus uždraustas naudoti, tačiau dėl stabilumo ir atsparumo aplinkos poveikiui, dalis pesticidų tebėra gamtoje ir gyvuose organizmuose. Didelės DDT koncentracijos nustatytos plėšriųjų ir vandens paukščių organizmuose. Net mažų DDT kiekių poveikis paukščių smegenims pasireiškia neurologiniais pakenkimais, pakitusiu elgesiu, pvz., jie meta iš lizdo kiaušinius.



Ypatingą pavojų DDT kelia su motinos pienu patekdamas į kūdikių organizmą. Ypač didelės DDT koncentracijos motinos piene nustatytos tose šalyse, kur šis insekticidas ypač gausiai naudotas. DDT ir jo metabolitai DDE bei DDD itin pavojingi: jie labai patvarūs, tirpūs riebaluose, todėl kaupiasi gyvūnų audiniuose, išsiskiria su pienu riebalais, perduodami mitybos grandinėje [12–14].

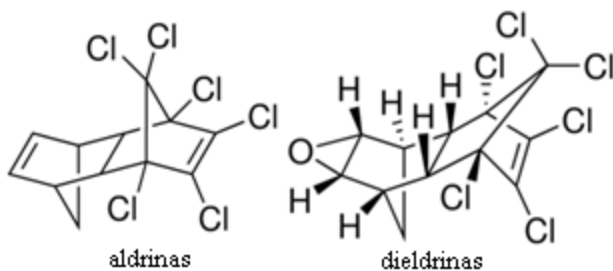
2,4-DDE molinė masė – 318,03 g/mol; tirpumas vandenyje – 0,14 mg/l (25 °C).

4,4-DDE – baltos spalvos kristalinė medžiaga; molinė masė – 318,03 g/mol; lydymosi temperatūra +89 °C; virimo temperatūra +336 °C; tirpumas vandenyje – 0,12 mg/l (25 °C); tirpsta lipiduose ir daugelyje organinių tirpiklių.

2,4-DDD molinė masė – 320,05 g/mol; lydymosi temperatūra +76–78 °C; tirpumas vandenyje – 0,1 mg/l (25 °C); tirpsta etilo alkoholyje, izooktane, anglies tetrachloride.

4,4-DDD molinė masė – 320,05 g/mol; lydymosi temperatūra +109–110 °C; tirpumas vandenyje – 0,09 mg/l (25 °C).

4,4-DDT molinė masė – 354,49 g/mol; lydymosi temperatūra +109 °C; tirpumas vandenyje – 0,025 mg/l (25 °C); tirpus eteriame ir acenone, mažai tirpus etilo alkoholyje [15–18].



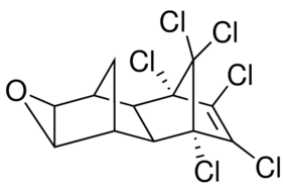
Aldrinas (HHDN) ir dieldrinas (HEOD) – panašios struktūros sintetiniai junginiai. Pagal IUPAC nomenklatūrą aldrinas yra 1,2,3,4,10,10-heksachlor-1,4,4 $\alpha$ ,5,8,8 $\alpha$ -heksahidro-1,4-endo,exo-5,8-dimetilnaftalenas; atitinkamai dieldrinas – 1,2,3,4,10,10-heksachloro-6,7-epoksi-1,4,4 $\alpha$ ,5,6,7,8,8 $\alpha$ -oktahidro-1,4-endo,exo-5,8-dimetilnaftalenas. HHDN ir HEOD plačiai naudoti 1950–1970 m. kaip insekticidai termitų populiacijai kontroliuoti taip pat kukurūzų bei medvilnės ūkiuose. 1970 m. šių medžiagų atsisakyta žemės ūkyje, tačiau iki 1987 m. jos buvo naudojamos termitų naikinimui.

Aldrinas (HHDN) ir dieldrinas (HEOD) lėtai garuoja į aplinką, be to, aldrinas (HHDN) yra lakesnis už dieldriną (HEOD). Abu junginiai pasižymi silpnu specifiniu kvapu. Pesticidai aptinkami dirvožemyje, vandens telkiniuose, taip pat namuose, kuriuose jais buvo naikinami termitai. Pesticidų randama augaluose bei gyvūnų organizmuose. Saulės šviesa ir bakterijos aldriną gali paversti dieldrinu, todėl ten, kur anksčiau buvo paskleistas ar sandėliuojamas HHDN, galima aptikti ir HEOD, lėtai skylančio vandenyje bei dirvožemyje (pusėjimo trukmė – 7 m.). Dieldrinas mažai tirpus vandenyje, todėl pesticidas randamas nedidelėmis koncentracijomis. Aplinkoje HEOD kartu su dulkėmis gali pasklisti dideliuose

plotuose, patekti į vietas, kurios yra labai toli nuo HEOD patekimo į aplinką. Yra duomenų, kad mikroorganizmai HEOD gali paversti fotodiieldrinu (pusėjimo trukmė – 4 m.) [19–23].

HHDN molinė masė – 364,9 g/mol; lydymosi temperatūra +104 °C; virimo temperatūra +145 °C (2 mm Hg stulpelio); tirpumas vandenyje – 0,027 mg/l (27 °C); tirpsta acetone (>600 g/l (27°C), benzene ir ksilene; etilo alkoholyje, eteryje, parafine, halogenintuose tirpikliuose; log  $K_{OW}$  = 6,50.

HEOD molinė masė – 380,9 g/mol; lydymosi temperatūra +175,5 °C; tirpumas vandenyje – 0,195 mg/l (25 °C); tirpsta acetone, benzene, etilo alkoholyje, toluene, anglies terachloride, metilo alkoholyje, dichlormetane; log  $K_{OW}$  = 5,40 [8].

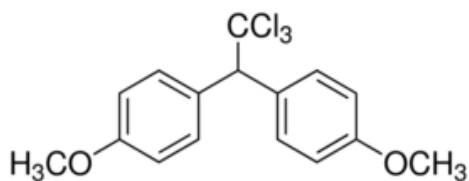


Endrinas buvo naudojamas kaip pesticidas vabzdžiams, graužikams bei paukščiams naikinti, saugant nuo jų medvilnės laukus ir javų pasėlius. Endrinas mažai tirpus vandenyje, tad jo koncentracija gruntiniuose bei paviršiaus vandenyse nedidelė. Didesnius šio pesticido kiekius galima aptikti upių, ežerų ar kitų vandens telkinių dugne. Tyrimai rodo, kad endrinas dirvoje gali išbūti ilgiau nei 10 metų. Endrino aldehidas susidaro endrinui senstant ir gendant, endrino ketonas – endriną veikiant šviesa. Apie endrino skilimo produktus nėra daug žinoma, nėra duomenų, kad endrino aldehido ar endrino ketono būtų aptikta aplinkoje.

Endrinas negaminamas ir neparduodamas nuo 1986 m. Tačiau pesticido galima aptikti pavojingų atliekų sandėliuose, taip pat aplink tokius sandėlius ore, vandenyje, bei dirvožemyje.

Endrinas į organizmą gali patekti su užterštu maistu, vandeniu, oru bei tiesioginio kontakto su oda metu. Endrinas iš organizmo pasišalina su prakaitu ar šlapimu per keletą dienų. Maži endrino kiekiai gali likti žmogaus riebaliniame sluoksnyje. Pesticidas gali sukelti centrinės nervų sistemos pažeidimus, konvulsijas, galvos skausmą, pykinimą, vėmimą, galvos svaigimą. Nėra duomenų, kad endrinas sukeltų vėžį [24].

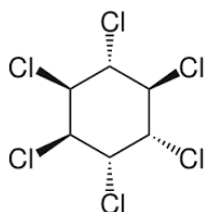
Endrinas – kieta, baltos spalvos, bekvapė medžiaga; molinė masė – 380,9 g/mol; lydymosi temperatūra +200 °C; tirpumas vandenyje – 0,25 mg/l (25 °C); tirpsta heksane, acetone, benzene, anglies terachloride; netirpsta metilo alkoholyje; log  $K_{OW}$  = 5,20 [8].



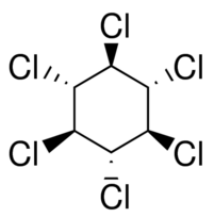
Metoksichloras dėl sąlyginai nedidelio toksiškumo žmonėms bei gyvūnams buvo laikomas potencialiu pesticido DDT pakaitalu. Metoksichloras – plataus veikimo insekticidas, naikinantis muses, uodus, tarakonus, įvairius nariuotakojus,

aptinkamus ant lauko augalų, daržovių, vaisių, sandėliuojamų grūdų. Pesticidas dažniausiai būdavo skiedžiamas benzinu ar kitais iš naftos gautais skiedikliais ir purškiamas; naudotas ir kaip fumigantas augalų kenkėjams ir ligų sukėlėjams naikinti, patalpoms dezinfekuoti. Metoksichloras naudotas daugiau nei 85 kultūroms, įskaitant ir pelkėse auginamas spanguoles, taikytas įvairiose teritorijose, pvz., paplūdimiuose, upių žiotyse ir kt. Metoksichloras naudotas sezoniškai, kai kenkėjų daugiausia – pavasarį ir vasarą, tuomet chemikalo koncentracija aplinkoje smarkiai padidėdavo. Metoksichloras nusėda dirvožemyje, jis mažiau sklinda nei aldrinas, dieldrinas, endrinas, DDT, heptachloras ar heksachlorbenzenas. Patekęs į vandenį, metoksichloras jungiasi prie organinių medžiagų ir nusėda ant dugno; jis kaupiasi jūros dumbliuose, moliuskuose, žuvyse. Nuo 2002 m. metoksichloras uždraustas Europos Sąjungoje, nuo 2004 m. – JAV. Metoksichloras sukelia nervų sistemos pažeidimus – drebulį, traukulius, neigiamai veikia kiaušides, gimdą, sėklides ir prostatą. Tiriant gyvūnus, pastebėtas vaisingumo sumažėjimas abiem lytims. Tyrimai nenustatė, kad metoksichloras gali sukelti vėžį [25].

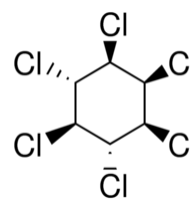
Metoksichloras yra geltono atspalvio, vaisių kvapo milteliai; molinė masė – 345,6 g/mol; lydymosi temperatūra +87 °C; tirpumas vandenyje – 0,1 mg/l (25 °C); tirpsta etilo alkoholyje, eteryje, benzene, anglies terachloride, metilo alkoholyje, ksilene; log  $K_{OW}$  = 5,08 [8].



$\alpha$ -1,2,3,4,5,6-  
heksachlorcikloheksanas



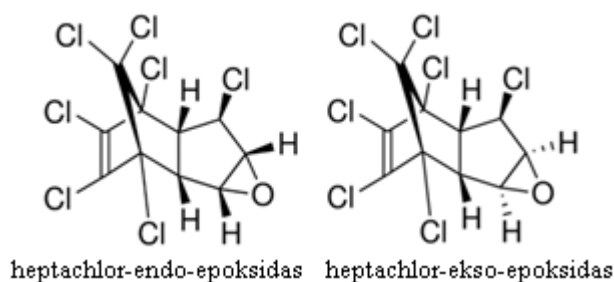
$\beta$ -1,2,3,4,5,6-  
heksachlorcikloheksanas



$\delta$ -1,2,3,4,5,6-  
heksachlorcikloheksanas

Heksachlorcikloheksanas turi aštuonis stereoizomerus, bet tik  $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\delta$ -HCH ir  $\gamma$ -HCH (lindanas) yra komerciškai reikšmingi. HCH plačiausiai naudojami ir lengviausiai aptinkami chloro organiniai pesticidai aplinkos mėginiuose.  $\beta$ -HCH izomero dideles koncentracijas galima nustatyti žmogaus riebaliniame sluoksnyje, kraujyje ir maitinančios motinos piene.  $\alpha$ -HCH ir  $\gamma$ -HCH izomerai yra labiausiai paplitę dirvožemyje, vandenyje ir oro mėginiuose. HCH izomerai ore gali išlikti ilgą laiką ir priklausomai nuo aplinkos sąlygų, pasklisti didelėje teritorijoje.  $\alpha$ -HCH ir  $\delta$ -HCH nebenaudojami, todėl poveikis žmogaus sveikatai nedidelis.  $\beta$ -HCH lėčiausiai pasišalina iš žmogaus organizmo, o  $\alpha$ -HCH ir  $\delta$ -HCH iš organizmo išsiskiria su šlapimu. HCH izomerai gali sukelti centrinės nervų sistemos ligas, pažeisti žmogaus endokrininę sistemą. Pesticidai gali sukelti kraujotakos sutrikimus, galvos svaigimą ir skausmą. Ilgalaikiai tyrimai su laboratoriniais graužikais parodė, kad HCH izomerai gali sukelti kepenų vėžį [26, 27].

Molinė masė – 290,83 g/mol; lydymosi temperatūra +159–160 °C ( $\alpha$ -1,2,3,4,5,6-heksachlorcikloheksanas), +314–315 °C ( $\beta$ -1,2,3,4,5,6-heksachlorcikloheksanas), +141–142 °C ( $\delta$ -1,2,3,4,5,6-heksachlorcikloheksanas); tirpsta etilo alkoholyje, eteryje, benzene [28].



Heptachloro epoksidas kaip insekticidas nenaudojamas nuo 1988 m. Bakterijos ir gyvūnai suardo heptachlorą ir jis virsa heptachloro epoksidu. Apie 20 % heptachloro aplinkoje virsta heptachloro epoksidu. Pesticido aptinkama dirvožemyje, ore, gruntiniuose ir paviršiniuose vandenyse, augaluose

bei gyvūnuose šalia pesticidų saugyklų arba namuose, kuriuose šia chemine medžiaga buvo naikinami termitai. Heptachloro epoksidas lengviau tirpsta vandenyje negu heptachloras; patekęs į orą, su vėjo nešamomis dulkėmis gali plačiai pasklisti. Heptachloro epoksidas atsparus, jis gali likti daugelį metų dirvožemyje ir vandenyje. Pesticidai kaupiasi žuvyse ir galvijų organizmuose, žmonių riebaliniame sluoksnyje. Tyrimais nustatyta, kad žmogaus organizme heptachloro epoksido aptikta praėjus 3 metams nuo kontakto su šiuo chemikalų. Heptachloro epoksidas priskiriamas cheminėms medžiagoms, kurios gali sukelti vėžį [29].

Molinė masė – 389,3 g/mol; lydymosi temperatūra +160–161,5 °C (heptachlor-ekso-epoksidas); tirpumas vandenyje –  $3,5 \times 10^{-3}$  (25 °C) (heptachlor – ekso – epoksidas) [28].

## 1.2. Klasikiniai chloro organinių pesticidų ekstrakcijos iš vandeninių tirpalų metodai

Dažnai chloro organinių pesticidų koncentracijos vandenyje yra mažos, o mėginiai sudėtingi, tad prieš analizuojant mėginius, juos reikia išvalyti, pašalinti analizei trukdančią matricą, sukcentruoti. Mėginio paruošimas dažnai būna sudėtingas procesas, kuris užima daugybę laiko. Labai svarbu parinkti tinkamą mėginio paruošimo būdą, kad analizė būtų atlikta greičiau, lengviau, pigiau, bet tuo pačiu ir kokybiškai. Klasikiniai chloro organinių pesticidų ekstrakcijos metodai yra skysčių-skysčių ekstrakcija ir kietafazė ekstrakcija.

Skysčių-skysčių ekstrakcijoje abi fazės, tarp kurių pasiskirsto analitė, yra tarpusavyje nesimaišantys skysčiai. Dažniausiai viena fazė yra vanduo, kita – organinis tirpiklis. Skysčių-skysčių ekstrakcija galima, jeigu analitė gerai tirpsta organiniame tirpiklyje. Parenkant ekstrahentą, reikia

atsižvelgti į medžiagų tankį, tirpumą bei į tai, ar medžiagos maišosi tarpusavyje. Besimaišantys tirpikliai yra tie, kuriuos sumaišius bet kokiais kiekiais nesusidaro dvi fazės. Nemaišūs tirpikliai sudaro dvi skirtingas fazes, tačiau jie gali būti dalinai tirpūs vienas kitame. Todėl parenkant ekstrahentą reikia atsižvelgti į tirpiklių tirpumą vienas kitame. Ekstrakcijai gali būti naudojami įvairūs vandenyje netirpūs tirpikliai ir tirpiklių mišiniai. Ekstrahuojant chloro organinius pesticidus, dažniausiai naudojami heksanas arba dichlormetanas [30, 31].

Skysčių-skysčių ekstrakcija gali būti atliekama purtant dalomąjį piltuvą su jame esančiomis vandenine ir organine faze arba naudojant magnetinę maišyklę: mėginys ir tirpiklis pilamas į tam tikro tūrio indą ir ekstrahuojamas maišant teflonu padengtu magnetiniu maišikliuku. Po ekstrakcijos tirpalai paliekami, kad atsiskirtų fazės. Ekstrahuojant mėginius, pvz., nuotekas, gali susidaryti emulsija dėl mėginyje esančių paviršinio aktyvumo medžiagų. Emulsiją galima suardyti šaldant ekstraktą, centrifuguojant ar pridėdant druskų [32]. Paprastai ekstraktas koncentruojamas nugarinimo metodu rotaciniu garintuvu arba dujų srautu. Skysčių-skysčių ekstrakcijos trūkumai: ilgai trunkanti ekstrakcija, sunaudojami dideli kiekiai brangių, sveikatai ir aplinkai kenkiančių cheminių medžiagų, reikia daug darbo sąnaudų.

Chloro organiniams pesticidams iš vandens išekstrahuoti taip pat naudojama kietafazė ekstrakcija (KFE).

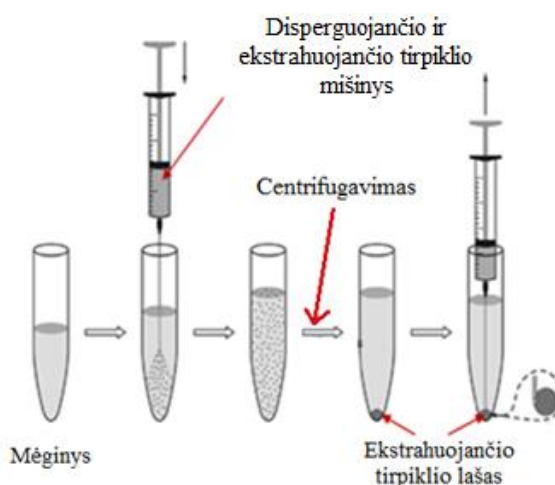
Kietafazė ekstrakcija, palyginus su skysčių-skysčių ekstrakcija, turi keletą privalumų: analitė išsiekstrahuoja geriau, priemaišos efektyviau atskiriamos nuo analitės, paprasčiau surinkti visą analitės fazę, lengviau automatizuoti procesą, mažesnė ekstrakcijos trukmė, mažesnė kaina, sunaudojama mažiau tirpiklių, ekstrahuojant nesusidaro emulsija. Kietafazės ekstrakcijos pagalba pasiekiamas didesnis sukonzentravimo laipsnis, analitės galima saugoti sorbuotas. Metodas suteikia daugiau galimybių atrankiai perskirti analitės, mėginį galima frakcionuoti į keletą junginių grupių. Tačiau KFE ekstrakcija turi trūkumų: galima negrįžtama analitės adsorbcija kolonėlėje, neįmanomas maišymas. Kietafazė ekstrakcija atliekama keturiais etapais: 1. Sorbento kondicionavimas. 2. Mėginio įleidimas. Mėginys leidžiamas per sorbentą vakuomo pagalba. Analitės sukonzentruojamos sorbente. 3. Priemaišų pašalinimas/plovimas. Matricoje esančios priemaišos pašalinamos nuo nejudančios fazės – sorbento – paviršiaus nedideliu kiekiu vandens ar buferio. 4. Adsorbuotos analitės išplovimas tirpikliu iš kolonėlės – eliuavimas. Kiekvieną šių etapų reikia optimizuoti – parinkti tinkamiausias sąlygas.

Sorbento pasirinkimas yra lemiamas, norint efektyviai atlikti KFE. Sorbcija turi vykti greitai, rezultatai turi pasikartoti, sorbuotos analitės turi būti lengvai ir pilnai eliuuojamos, sorbcijos procesas turi būti grįžtamas. Sorbentai turi būti porėti, turėti didelį paviršiaus plotą, būti atsparūs matricai ir

eliuentui, turi būti geras kontaktas tarp sorbento paviršiaus ir mėginio. Chloro organinių pesticidų kietafazėje ekstrakcijoje naudojamos įvairiais sorbentais užpildytos kolonėlės, ekstrakciniai diskai [33], pipetės [34], 96 celių plokštelė [35]. Dažniausiai COP likučių mėginyje nustatymui naudojami KFE sorbentai yra silikagelis ( $\text{SiO}_2$ )<sub>x</sub> (kovalentiniais ryšiais prijungus nepolinius ligandus prie silikagelio silanolinių grupių, gaunami hidrofobinių savybių atvirkštinių fazių sorbentai (C8, C18), normalių fazių aminopropil (-NH<sub>2</sub>), pirminių – antrinių aminų sorbentai (PSA, angl. *primary – secondary amine*), aliuminio oksidas ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), magnio silikatas ( $\text{MgSiO}_3$  arba florisilis), grafituotos anglies sorbentai. Kietafazė kolonėlė parenkama priklausomai nuo nustatomų chloro organinių pesticidų fizikinių bei cheminių savybių [36].

### 1.3. Chloro organinių pesticidų dispersinė skysčių-skysčių mikroekstrakcija

2006 m. sukurta nauja mikroekstrakcijos technika, pavadinta dispersine skysčių-skysčių mikroekstrakcija (DSSME). DSSME yra labai paprastas ir greitas ekstrakcijos metodas, kuriuo galima atskirti organinius junginius iš vandeninių mėginių. Taikant šį metodą naudojamas ekstrahentas, kurio tankis didesnis už vandens tankį, bei disperguojantis tirpiklis, kuris maišosi tiek su vandeniu, tiek su ekstrahentu. Ekstrahento ir dispergento mišinys greitai sušvirkščiamas švirkštu į vandeninį mėginį. Susidaro drumstas tirpalas – mažos ekstrahuojančio tirpiklio dalelytės, disperguotos vandeninėje fazėje. Ekstrakcija vyksta labai greitai, nes ekstrahuojančio tirpiklio ir analizuojamo tirpalo sąlyčio plotai yra labai dideli. Po ekstrakcijos mišinys centrifuguojamas ir organinis tirpiklis su analitėmis nusėda ant ekstrakcinio indo dugno. Ekstraktas paimamas mikrošvirkštu ir įleidžiamas į dujų chromatografą. Analitės sukonzentruojamos nuo 603 iki 1113 karto, o išekstrahuotų analizių išeiga nuo 60,3 iki 111,3 % [37].



1 pav. Dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos atlikimo schema

Ekstrahuojantis tirpiklis turi tenkinti tam tikrus reikalavimus: 1. Tirpiklio tankis turi būti didesnis už vandens tankį. 2. Turi gerai ekstrahuoti analites. 3. Turi būti mažai tirpus vandenyje. 4. Turi gerai tirpti disperguojančiame tirpiklyje. Taikant DSSME chloro organinams mėginiams, ekstrahuojančiais tirpikliais gali būti naudojami anglies tetrachloridas (tankis 1,59 g/cm<sup>3</sup>) [38], tetrachloretilenas (tankis 1,62 g/cm<sup>3</sup>) [39], chloroformas (tankis 1,49 g/cm<sup>3</sup>) [40].

Disperguojantis tirpiklis turi gerai maišytis su ekstrahuojančiu tirpikliu ir vandenine faze. Kadangi tik nedaugelis medžiagų maišosi tiek su organine faze, tiek su vandeniu, disperguojančio tirpiklio pasirinkimas nėra platus. Chloro organinių pesticidų nustatymui naudojami disperguojantys tirpikliai yra acetonas [38, 39], acetonitrilas [40], metanolis [41]. Nuo ekstrahuojančio ir disperguojančio tirpiklių tūrių priklauso susidariusios emulsijos stabilumas ir lašelių dydis. Kuo smulkesni lašeliai, tuo didesnis fazių sąlyčio paviršiaus plotas, tuo greitesni masių mainai ir tuo greitesnė mikroekstrakcija. Ekstrakcijos trukmė neturi didelės įtakos ekstrakcijos efektyvumui, nes DSSME labai greitai.

Šis mikroekstrakcijos būdas naujas, tačiau puikiai derinamas su dujų chromatografija, efektyviaja skysčių chromatografija, atominės absorbcijos spektrometrija. Metodas netinkamas sudėtingų matricių analizei [37, 40–42].

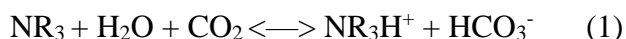
#### 1.4. Keičiamo hidrofiliškumo tirpikliai

Ankstesniame skyriuje aprašyta dispersinė skysčių-skysčių mikroekstrakcija ypač vertinama dėl greito atlikimo. Ekstrahentas pasklinda mėginyje smulkių lašelių pavidalu, dėl to ekstrahento ir mėginio sąlyčio paviršius yra labai didelis ir ekstrakcija įvyksta labai greitai. Norint dar labiau padidinti fazių sąlyčio paviršiaus plotą, pasiūlyta homogeninė skysčių-skysčių ekstrakcija [43]. Šiuo atveju tirpiklis ir mėginys iš pradžių sudaro homogeninę fazę, taigi fazių sąlyčio paviršius tampa be galo didelis, o tada tirpiklio fazė drauge su analite atskiriama nuo mėginio. Homogeninei skysčių-skysčių mikroekstrakcijai reikalingi keičiamo hidrofiliškumo tirpikliai (KHT). Viena KHT forma gerai tirpi vandenyje, o kita forma hidrofobinė, su vandeniu nesimaišo.

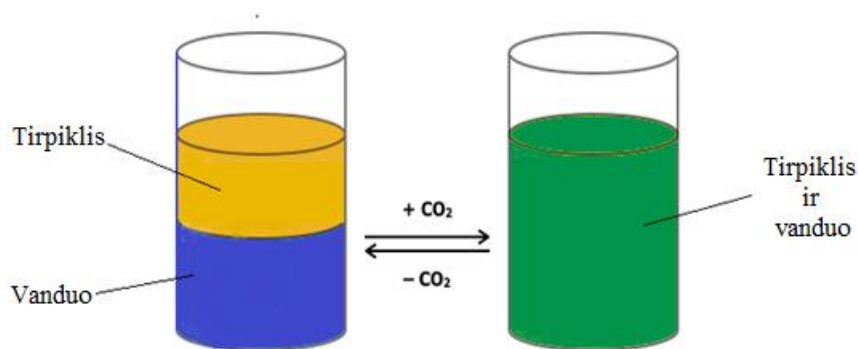
Keičiamu hidrofiliškumu pasižymi kai kurie amidinai, guanidinai bei antriniai ir tretiniai aminai. Kaip taisyklė, šių junginių pK<sub>a</sub> daugiau nei 9,5–11,0, o log K<sub>ow</sub> tarp 1,2 ir 2,5 [44]. Šių junginių hidrofiliškumas gali būti reguliuojamas anglies dioksidu. CO<sub>2</sub> – reagentas, turintis labai daug teigiamų savybių: pigus, nekenkia aplinkai, nesikaupia sistemoje, lengvai pašalinamas iš tirpalo, netoksiškas [45].

Keičiamo hidrofiliškumo tirpikliai normaliomis sąlygomis suformuoja su vandeniu dvifazius mišinius, tačiau tirpalą paveikus CO<sub>2</sub>, tirpikliai tampa hidrofiliškesni ir maišūs su vandeniu. Taip atsitinka

dėl to, kad vandenyje ištirpęs CO<sub>2</sub> sudaro karbonato rūgštį, pastaroji protonizuoja keičiamo hidrofiliškumo tirpiklį ir šis virsta vandenyje tirpiu karbonatu:



Pašalinus CO<sub>2</sub> iš mišinio, KHT vėl tampa hidrofobinis ir atsiskiria nuo vandens fazės drauge su jame ištirpusiomis analitėmis. Pašalinti anglies dioksidą galima paveikus tirpalą ultragarsu, pakaitinus tirpalą arba leidžiant per tirpalą orą ar azotą. Taip pat hidrofiliškumą galima pakeisti ir chemiais reagentais – pridėdant CaCl<sub>2</sub>, rūgščių ar NaOH.



**2 pav.** Keičiamo hidrofiliškumo tirpikliai, veikiami CO<sub>2</sub>, sudaro bikarbonatinę druską, tirpią vandenyje. Pašalinus CO<sub>2</sub>, tirpiklis grįžta į pirminę būseną

Iki šiol KHT daugiausiai buvo naudojami pramoninei ekstrakcijai. Pradžioje tirpiklis yra tokios formos, kuri tirpina ekstrahuojamą medžiagą, o paskui tirpiklio savybės pakeičiamos ir jis medžiagos nebetirpina. Tokiu būdu medžiagą paprasta atskirti nuo tirpiklio nenaudojant distiliavimo [46–50]. Keičiamo hidrofiliškumo tirpikliai pirmąkart buvo panaudoti homogeninei skysčių-skysčių mikroekstrakcijai 2015 m. Jais iš vandeninių tirpalų buvo ekstrahuoti policikliniai aromatiniai angliavandeniliai [51] ir triazininiai herbicidai [52] bei ofloksacinas iš šlapimo [53].



## 2. EKSPERIMENTO METODIKA

### 2.1. Reagentai ir tirpalai

Standartiniams vienetiniams chloro organinių pesticidų tirpalams pagaminti buvo naudojami šie „Sigma-Aldrich“ reagentai: 4,4'-DDE (99,7 %), 4,4'-DDD (99,5 %), 4,4'-DDT (99,5 %),  $\alpha$ -heksachlorcikloheksanas ( $\alpha$ -HCH) (99,8 %), lindanas ( $\gamma$ -HCH) (99,8 %), heptachloras (98,5 %), aldrinas (98,6 %), 2,4'-DDE (99,8 %), 2,4'-DDD (99,0 %),  $\beta$ -heksachlorcikloheksanas ( $\beta$ -HCH) (99,2 %),  $\delta$ -heksachlorcikloheksanas ( $\delta$ -HCH) (99,7 %), pentachlorbenzenas (99,9 %), heksachlorbenzenas (99,8 %), heptachlor-ekso-epoksidas (99,7 %), heptachlor-endo-epoksidas (99,7 %), dieldrinas (97,05 %), endrinas (99,3 %), metoksichloras 98,7 %), acetonas (chemiškai grynas), heksanas (chemiškai grynas).

Dispersinei skysčių-skysčių ekstrakcijai išbandyti šie chemiškai gryni ekstrahuojantys tirpikliai: anglies tetrachloridas, chlorbenzenas, 1,2-dichlorbenzenas, metilo benzoatas. Dispersinei skysčių-skysčių ekstrakcijai išbandyti šie chemiškai gryni disperguojantys tirpikliai: acetonas, metanolis, etanolis, acetonitrilas.

Tyrimams vidiniu standartu pasirinktas brombenzenas (99%). Vidinio standarto koncentracija vandeniniame chloro organinių pesticidų tirpale 0,1  $\mu$ g/ml.

Vandeniui iš mėginio eliminuoti naudojamas bevandenis natrio sulfatas, analiziškai grynas (Eurochemicals).

Klasikinei skysčių-skysčių ekstrakcijai standartiniai vienetiniai tirpalai gaminti svėrimo būdu – kiekvieną chloro organinį pesticidą sveriant ir tirpinant heksane. Chloro organinių pesticidų koncentracijos tirpale yra 0,1 mg/ml.

Jungtiniam standartiniam chloro organinių pesticidų tirpalui pagaminti imama po 1 ml kiekvieno standartinio vienetinio tirpalo į 100 ml matavimo kolbutę ir skiedžiama acetonu iki žymės. Koncentracija 1  $\mu$ g/ml.

Dispersinei skysčių-skysčių mikroekstrakcijai standartiniai vienetiniai tirpalai gaminti svėrimo būdu – kiekvieną chloro organinį pesticidą sveriant ir tirpinant acetone. Chloro organinių pesticidų koncentracijos tirpale yra 0,5 mg/ml.

Jungtiniam standartiniam chloro organinių pesticidų tirpalui pagaminti imama po 1 ml kiekvieno standartinio vienetinio tirpalo į 100 ml matavimo kolbutę ir skiedžiama acetonu iki žymės. Koncentracija 5  $\mu$ g/ml.

Darbiniai COP tirpalai gaminami skiedžiant jungtinius standartinius COP tirpalus dejonizuotu vandeniu iki reikiamos koncentracijos.

Gaminamas jungtinis standartinis chloro organinių pesticidų tirpalas: į matavimo kolbutę įnešamas tam tikras kiekis kiekvieno standartinio vienetinio tirpalo. Skiedžiama dejonizuotu vandeniu iki žymės, medžiagų koncentracija 0,01 μg/ml. Jungtinis standartinis chloro organinių pesticidų tirpalas (0,01 μg/ml) naudotas analizės metodo charakteristikoms (glaudumui, aptikimo ribai) įvertinti.

Ekstrakcijai keičiamo hidrofiliškumo tirpikliais naudoti tirpikliai: 2-dibutilamino etanolis (99 %), N,N-dimetilheksilaminas (98 %), N,N-dietilbutilaminas (97 %), N,N-dimetilcikloheksilaminas (99 %), dimetilaminobutiraldehido dietilacetalis (98 %).

## 2.2. Aparatūra

Analizinės svarstyklės *SCALTEC SBC 31* (Vokietija), magnetinė maišyklė *MR 3000D* (Heidolph, Vokietija), sukamasis garintuvas *LABOROTA 4002-control* (Heidolph, Vokietija). Dujų chromatografas *SHIMADZU GC-2010* su elektronų gaudymo detektoriumi, automatinė mėginio įvedimo sistema *SHIMADZU AOC-5000* (Japonija), 10 μl *SGE* (Australija) mikrošvirkštas. Chromatogramų duomenys apdoroti dujų chromatografo valdymo programa „Labsolutions. GC solution“. Centrifuga *BOECO S-8* (Vokietija), dujų chromatografas *Clarus 580* (PerkinElmer, JAV) su masių spektrometriniu detektoriumi *Clarus 560S* (PerkinElmer, JAV), dujų chromatografas *Clarus 580* (PerkinElmer, JAV) su elektronų gaudymo detektoriumi.

## 2.3. Dujų chromatografinės sąlygos

### Klasikinė skysčių-skysčių ekstrakcija

Chromatografiniam chloro organinių pesticidų perskyrimui naudojama kapiliarinė kolonėlė *EC-5*, kurios ilgis 30 m, vidinis skersmuo 0,53 mm, stacionarios fazės storis 1 μm. Nešančios dujos – azotas.

Eksperimentiškai pasirinktas dujų chromatografo darbinis režimas, kad būtų pasiektas optimalus tiriamų junginių perskyrimas. Optimizuotos chromatografinės sąlygos: detektoriaus temperatūra 300 °C, mėginio įvedimo sistemos temperatūra 270 °C, mėginio įleidimo tipas be srauto dalinimo („Splitless“), nešančių dujų srauto kontrolės tipas – kontroliuojamas greitis, bendras nešančių dujų srautas 12,7 ml/min., nešančių dujų srautas per detektorių 30,0 ml/min., nešančių dujų slėgis 217,4 kPa, įleidžiamo mėginio tūris 1 μl.

Termostato temperatūra programuojama: 2 min. laikoma 40 °C, 30 °C/min. keliama iki 60 °C ir išlaikoma 1 min., 12 °C/min. keliama iki 180 °C ir išlaikoma 8 min., 3,0 °C/min. keliama iki 240 °C ir išlaikoma 5 min.

### Dispersinė skysčių-skysčių mikroekstrakcija

Naudotas dujų chromatografas *Clarus 580* su masių spektrometriniu detektoriumi *Clarus 560S*. Chromatografiniam chloro organinių pesticidų perskyrimui naudojama kapiliarinė kolonėlė *ELITE – 5 MS*, kurios ilgis 30 metrų, vidinis skersmuo 0,25 mm, o nejudrios fazės sluoksnio storis 0,25 µm (PerkinElmer, JAV). Kolonėlė padengta metilpolisiloksanu (5 % fenilo). Judri fazė – helio dujos.

Eksperimentiškai pasirinktas dujų chromatografo darbinis režimas, kad būtų pasiektas optimalus tiriamų junginių perskyrimas. Optimizuotos chromatografinės sąlygos: chromatografo garintuvo temperatūra 250 °C. Naudojama chromatografinės kolonėlės temperatūros programa: pradinė temperatūra 150 °C, laikoma 2 min., po to temperatūra keliama 1 °C/min. greičiu iki 160 °C ir 3 °C/min. greičiu 250 °C. Prieš leidžiant mėginį, judriosios fazės srauto dalinimo vožtuvas buvo uždaromas iki 1,5 min. ir per chromatografinę kolonėlę palaikomas 4 ml/min. nešančiųjų dujų tūrinis greitis. Po to atidaromas srauto dalinimo kanalas (1,55 min.). Nešančiųjų dujų srautas dalinamas santykiu 10:1. Nešančiųjų dujų tūrinis greitis per chromatografinę kolonėlę 1 ml/min. Kapiliarinės kolonėlės jungties su masių spektrometro jonų šaltiniu temperatūra 280 °C. Jonų šaltinio elektronų jonizacijos energija 70 eV, temperatūra 180 °C. Mėginio tūris 1 µl.

### Ekstrakcija su keičiamo hidrofiliškumo tirpikliais

Chromatografiniam chloro organinių pesticidų perskyrimui naudojama kapiliarinė kolonėlė *Elite 200* (trifluoropropilmetil-polisiloksanas, ilgis 30 m, vidinis skersmuo 0,25 mm, nejudrios fazės sluoksnio storis 0,25 µm).

Eksperimentiškai pasirinktas dujų chromatografo darbinis režimas, kad būtų pasiektas optimalus tiriamų junginių perskyrimas. Optimizuotos chromatografinės sąlygos: mėginio įvedimas rankinis, su srauto dalijimu (20:1), dujų srautas per kolonėlę 1 ml/min. Dujos – azotas. Garintuvo temperatūra 250 °C, detektoriaus temperatūra 320 °C, kolonėlės temperatūros programa: 170 °C laikoma 1 min., keliama 5 °C/min. greičiu iki 210 °C, paskui 15 °C/min. greičiu iki 290 °C, laikoma 1 min.

## **2.4. Skysčių-skysčių ekstrakcijos procedūra**

Matavimo cilindru matuojama 900 ml vandens mėginio. Vanduo supilamas į 1000 ml talpos indą, kuris užkemšamas šlifuoju kamščiu arba teflono tarpine. Chloro organiniai pesticidai ekstrahuojami 30 ml heksano, maišant magnetine maišykle 10 min. 1000 aps/min. greičiu. Maišant indas privalo būti hermetiškai uždengtas. Vandens-heksano mišinys pernešamas į 1000 ml tūrio dalinamąjį piltuvą. Atskiriamas viršutinis heksano sluoksnis. Dalinamasis piltuvas plaunamas dviem porcijomis heksano po 15 ml. Sujungti tirpiklio kiekiai džiovunami 10 g bevandeniu natrio sulfatu. Heksano tirpalas

dekantuojamas, natrio sulfatas plaunamas 10–20 ml heksano. Ekstraktas nugarinamas sukamuoju garintuvu iki ~ 0,6 ml 50 °C temperatūroje. Liekana praskiedžiama heksanu 1 ml matavimo kolbutėje ir analizuojama dujų chromatografu *SHIMADZU GC-2010* su elektronų gaudymo detektoriumi.

## 2.5. Dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos procedūra

Į kūginį mėgintuvėlį centrifugavimui įpilama 8 ml vandens mėginio. Pridedama 10 µl vidinio standarto – brombenzeno. Greitai sušvirksčiama 500 µl ekstrahento – anglies tetrachlorido ir dispergento – acetonitrilo mišinio (20 µl CCl<sub>4</sub> + 480 µl CH<sub>3</sub>CN). Mėginys centrifuguojamas 3 min. 5000 aps./min. greičiu. Švirksčiu iš ekstrakcinio indo dugno imama 1 µl mėginio ir rankiniu būdu įvedama į dujų chromatografą *Clarus 580* (PerkinElmer, JAV) su masių spektrometriniu detektoriumi *Clarus 560S* (PerkinElmer, JAV).

## 2.6. Ekstrakcijos su keičiamo hidrofiliškumo tirpikliais procedūra

Gaminamas tirpiklio ir distiliuoto vandens mišinys. Į 100 ml tūrio užsukamus buteliukus įpilama atitinkamai kiekvieno tirpiklio po 10 ml ir po 10 ml dejonizuoto vandens. Susidaro dvi fazės. Į buteliukus dedama sauso ledo (CO<sub>2</sub>) tol, kol abi fazės susimaišo. Mišinys naudojamas ekstrakcijai. Į 10 ml siaurakaklę kolbutę imama 8 ml tiriamo chloro organinių pesticidų tirpalo, pridedama 0,5 ml ekstrahuojančio mišinio, supurtoma, kol susidaro homogeniškas tirpalas, pridedama 1 ml 20 mol/l NaOH tirpalo. Fazėms atsiskyrus, mikrošvirštu paimama 1 µl ekstrakto iš viršutinio sluoksnio ir rankiniu būdu įvedama į dujų chromatografą *Clarus 580* (PerkinElmer, JAV) su elektronų gaudymo detektoriumi.

## 2.7. Analizės rezultatų įvertinimas

Analizės rezultatų įvertinimui panaudota matematinė statistika. Aritmetinis vidurkis  $x$  yra  $n$  matavimų rezultatų vidutinė vertė ir apskaičiuojama pagal formulę:

$$\bar{x}_n = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (2)$$

kur:

$n$  – matavimų skaičius;

$x_i$  – matavimo vertė.

Matavimų serijos standartinis nuokrypis  $S$  charakterizuoja atskirų matavimo verčių išbarstymą nuo jų aritmetinio vidurkio ir išreiškiamas lygtimi:

$$S_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (3)$$

Kur:

$S$  – standartinis nuokrypis;

$n$  – matavimų skaičius;

$i=1, 2, \dots, n$ ;

$\bar{x}$  – tyrimų rezultatų vidutinė vertė;

$x_i$  –  $i$ -ojo matavimo vertė.

*Excel* programos pagalba brėžiamos kalibravimo kreivės, ant abscisų ašies atidedant madžiagos koncentraciją ( $\mu\text{g/ml}$ ), ant ordinačių – nustatomos analitės smailės plotą. Kalibravimo kreivės tiesės lygtis panaudojama rezultatų skaičiavimui. Chlora organinių pesticidų kiekis mėginyje apskaičiuojamas pagal formulę:

$$C_i = \frac{c_i \times V_e \times 1000}{V_m} \quad (4)$$

kur:

$C_i$  – analitės koncentracija mėginyje,  $\mu\text{g/l}$ ;

$c_i$  – iš kalibravimo kreivės apskaičiuota analitės koncentracija ekstrakto,  $\mu\text{g/ml}$ ;

$V_e$  – ekstrakto tūris, ml;

$V_m$  – mėginio tūris, ml.

Metodo glaudumas įvertinamas pakartojamumo sąlygomis, tiriant laboratorijoje paruoštą kontrolinį mėginį su tam tikru pridėtų chlora organinių pesticidų kiekiu ir nustatant santykinį standartinį nuokrypį.

Glaudumas apskaičiuojamas kaip santykinis standartinis nuokrypis procentais:

$$S_r (\%) = \frac{S}{\bar{c}} \times 100 \quad (5)$$

Kur:

$S_r$  – santykinis standartinis nuokrypis, %;

$S$  – standartinis nuokrypis;

$\bar{c}$  – tyrimų rezultatų vidutinė vertė.

Analitės aptikimo riba įvertinama, tiriant laboratorijoje paruoštą kontrolinį mėginį su tam tikru pridėtų chloro organinių pesticidų kiekiu ir nustatant standartinį nuokrypį. Aptikimo riba apskaičiuojama pagal formulę:

$$X = 3 \times S \quad (6)$$

kur:

X – analitės nustatymo riba,

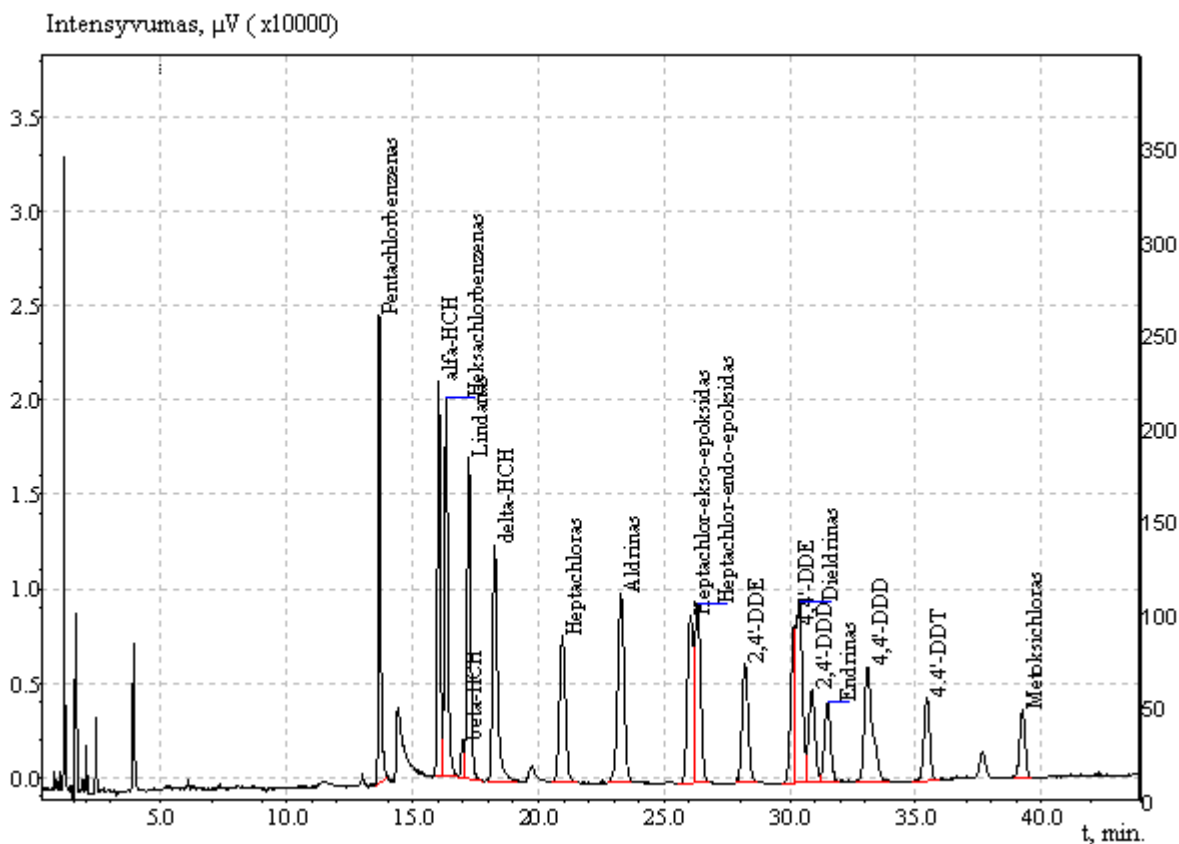
S – standartinis nuokrypis.

### 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

#### 3.1. Chloro organinių pesticidų skysčių-skysčių ekstrakcija

Chloro organinių pesticidų nustatymas atliktas remiantis LST EN ISO 6468:2000 metodu. Pagal šį metodą chloro organiniai pesticidai iš tiriamų mėginių išekstrahuojami heksanu ir analizuojami dujų chromatografu su elektronų gaudymo detektoriumi.

Pirmiausiai, naudojant standartinę 0.05 µg/ml COP tirpalą heksane, buvo optimizuotos dujų chromatografinio perskyrimo sąlygos. Optimaliomis sąlygomis gauta chromatograma pateikta 3 pav.



**3 pav.** Standartinio chloro organinių pesticidų tirpalo chromatograma. Analizių koncentracijos 0,05µg/ml

Klasikinė skysčių-skysčių ekstrakcija atliekama: matavimo cilindru matuojama 900 ml vandens mėginio. Vanduo supilamas į 1000 ml talpos indą, kuris užkemšamas šlifuoju kamščiu arba teflono tarpine. Chloro organiniai pesticidai ekstrahuojami 30 ml heksano, maišant magnetine maišykle 10 min. 1000 aps/min. greičiu. Maišant indas privalo būti hermetiškai uždengtas. Vandens-heksano mišinys

pernešamas į 1000 ml dalinamąjį piltuvą. Atskiriamas viršutinis heksano sluoksnius. Dalinamasis piltuvas plaunamas dviem porcijomis heksano po 15 ml. Sujungti tirpiklio kiekiai džiovinami 10 g bevandeniu natrio sulfatu. Heksano tirpalas dekantuojamas, natrio sulfatas plaunamas 10–20 ml heksanu. Ekstraktas nugarinamas sukamuoju garintuvu iki ~ 0,6 ml 50 °C temperatūroje. Liekana praskiedžiama heksanu 1 ml matavimo kolbutėje. Ekstraktas pernešamas į 2ml tūrio chromatografinius buteliukus, užsandarinamas kamšteliais su PTFE padengtomis tarpinėmis, ir automatiškai įvedamas į dujų chromatografo garintuvą.

Chloro organinių pesticidų nustatymo metodas įvertintas pagal Lietuvos higienos normos HN 24:2003 Geriamojo vandens saugos ir kokybės reikalavimus.

Kiekvienam tiriamam junginiui gauta kalibravimo kreivė, įvertintas metodo glaudumas bei chloro organinių pesticidų aptikimo ribos.

Kalibravimo kreivės gautos analizuojant standartinius chloro organinių pesticidų tirpalus. Iš pradinio standartinio chloro organinių pesticidų tirpalo skiedžiant pagaminti penkių skirtingų koncentracijų tirpalai: 0,5 µg/ml, 0,1 µg/ml, 0,05 µg/ml, 0,01 µg/ml, 0,005 µg/ml. *Excel* programos pagalba kiekvienai analizei nubraižyta kalibravimo kreivė ir suskaičiuoti tiesės lygčių parametrai. Visų chloro organinių pesticidų kreivės buvo tiesinės,  $R^2$  reikšmės 0,9929–0,9999. Pagal reikalavimus  $R^2$  turi būti didesnis už 0,990.

Metodo glaudumas apibrėžiamas kaip nepriklausomų tyrimų rezultatų, gautų nurodytomis sąlygomis, tarpusavio atitikimo rezultatas. Pakartojamumo sąlygos yra tokios sąlygos, kai nepriklausomų tyrimų rezultatai gaunami tuo pačiu metodu, su tais pačiais tyrimų objektais, toje pačioje laboratorijoje, tam pačiam matuotojui naudojant tą pačią įrangą, per trumpą laiką. Atkuriamumo sąlygos – tai sąlygos, kai nepriklausomų tyrimų rezultatai gaunami tuo pačiu metodu, su tokiais pačiais tyrimų objektais, skirtingose laboratorijose, skirtingų matuotojų, naudojant skirtingą įrangą. Glaudumas išreiškiamas santykinu standartiniu nuokrypiu ( $S_r$ , %).

Glaudumas įvertintas pakartojamumo sąlygomis, tiriant laboratorijoje paruoštą kontrolinį mėginį. Į dejonizuotą vandenį pridėta tam tikras standartinio chloro organinių pesticidų tirpalo kiekis, kad analičių koncentracija vandenyje būtų 0,05 µg/l. Atliktos šešios pakartotinės ekstrakcijos ir analizuoti gauti ekstraktai. Iš kalibravimo kreivės rasta analičių koncentracija ir apskaičiuotas metodo glaudumas kiekvienai analizei. Gauti rezultatai pateikti 1 lentelėje.



**1 lentelė.** Chloro organinių pesticidų nustatymo vandenyse glaudumas, kai analičių koncentracija 0,05 µg/l (n = 6)

Analitė	R <sup>2</sup>	Glaudumas (S <sub>r</sub> ), %
Pentachlorbenzenas	0,9972	5,2
α-Heksachlorcikloheksanas (α-HCH)	0,9991	6,7
Heksachlorbenzenas	0,9979	8,9
β-Heksachlorcikloheksanas (β-HCH)	0,9977	6,7
Lindanas (γ-HCH)	0,9999	7,5
δ-Heksachlorcikloheksanas (δ-HCH)	0,9997	5,8
Heptachloras	0,9984	6,0
Aldrinas	0,9982	3,3
Heptachlor-ekso-epoksidas	0,9948	5,4
Heptachlor-endo-epoksidas	0,9972	3,9
2,4'-DDE	0,9954	4,8
4,4'-DDE	0,9962	4,3
Dieldrinas	0,9986	8,7
2,4'-DDD	0,9929	4,2
Endrinas	0,9996	2,5
4,4'-DDD	0,9971	3,7
4,4'-DDT	0,9989	4,3
Metoksichloras	0,9989	7,1

Pagal Lietuvos higienos normos HN 24:2003 reikalavimus, kiekvienos analitės glaudumas turi būti ≤ 25%. Kaip matyti iš 1 lentelės, metodo glaudumas visiems 18 chloro organinių pesticidų tenkina reikalavimus.

Aptikimo riba – tai analitės kiekis, atitinkantis žemiausią matavimo signalą, kuris statistiškai patikimai gali būti interpretuojamas kaip įrodymas, kad analitė yra mėginyje, tačiau tiksliai kiekybiškai jos kiekio nustatyti negalima. Kadangi tuščias mėginys duoda labai mažą matavimo signalą, analitės aptikimo riba nustatoma tiriant mėginį su maža analitės koncentracija. Aptikimo riba įvertinta, tiriant laboratorijoje paruoštą kontrolinį mėginį. Į dejonizuotą vandenį pridedama standartinio chloro organinių pesticidų tirpalo, kad analičių koncentracija mėginyje būtų 0,05 µg/l. Su šia koncentracija atliktos šešios

pakartotinės ekstrakcijos pagal anksčiau aprašytą procedūrą, ekstraktai išanalizuoti. Iš kalibravimo kreivės rasta analičių koncentracija ir apskaičiuota metodo aptikimo riba kiekvienai analitei.

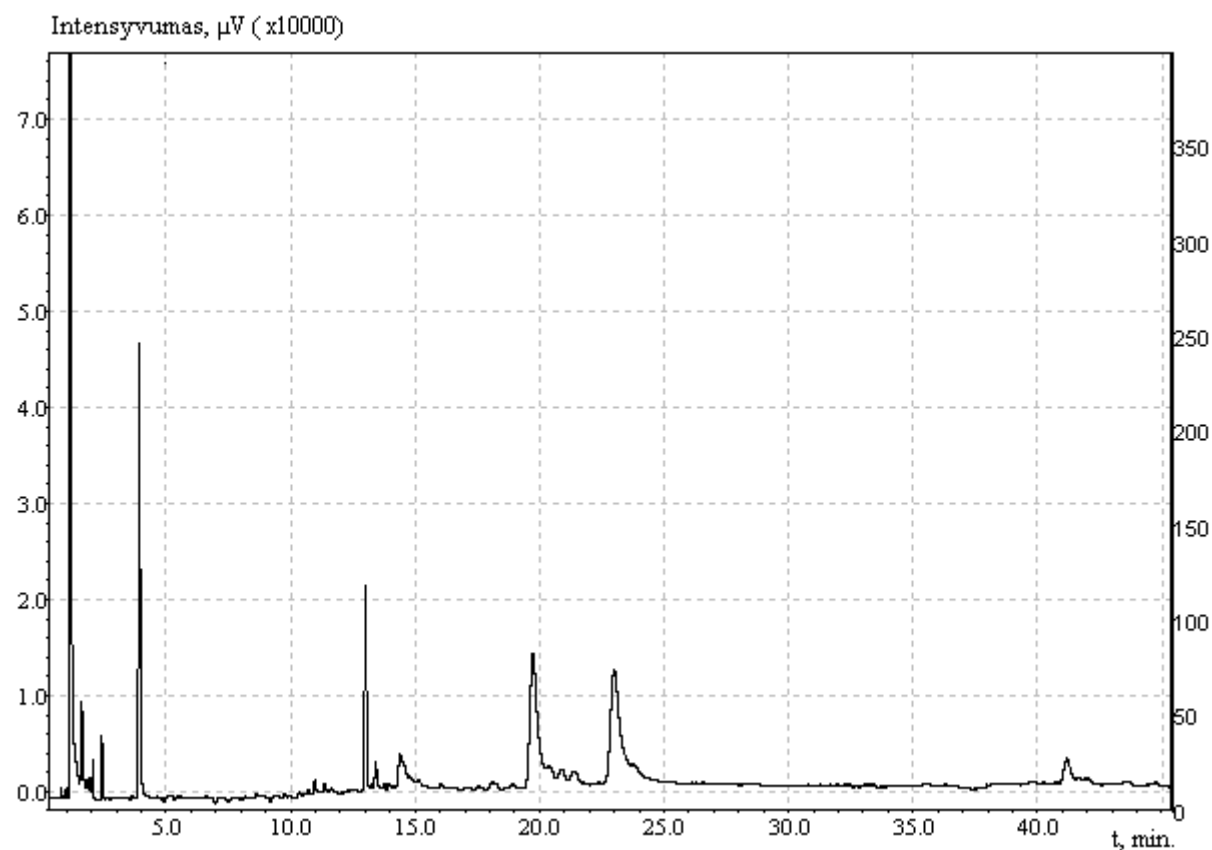
**2 lentelė.** Chloro organinių pesticidų nustatymo vandenyse aptikimo riba

Analitė	Aptikimo riba, µg/l	Leistina riba, µg/l (pagal HN 24:2003)
Pentachlorbenzenas	0,005	0,10
α-Heksachlorcikloheksanas (α-HCH)	0,007	0,10
Heksachlorbenzenas	0,010	0,10
β-Heksachlorcikloheksanas (β-HCH)	0,008	0,10
Lindanas (γ-HCH)	0,009	0,10
δ-Heksachlorcikloheksanas (δ-HCH)	0,006	0,10
Heptachloras	0,008	0,030
Aldrinas	0,004	0,030
Heptachlor-ekso-epoksidas	0,007	0,030
Heptachlor-endo-epoksidas	0,005	0,030
2,4'-DDE	0,006	0,10
4,4'-DDE	0,005	0,10
Dieldrinas	0,010	0,030
2,4'-DDD	0,005	0,10
Endrinas	0,004	0,10
4,4'-DDD	0,004	0,10
4,4'-DDT	0,007	0,10
Metoksichloras	0,010	0,10

Pagal Lietuvos higienos normos HN 24:2003 reikalavimus, kiekvienos analizės aptikimo riba turi būti aldrino, heptachloro-endo-epoksido, heptachloro-ekso-epoksido, dieldrino ir heptachloro  $\leq 0,030$  µg/l, visų likusių chloro organinių pesticidų  $\leq 0,10$  µg/l.

Paruošta skysčių-skysčių ekstrakcijos metodika ištirti 10 realių vandens mėginių: Šventas ežeras, Švenčionėlių seniūnija, Žiezdrelio ežeras, Utenos raj., Samanio ežeras, Ignalinos raj., Bebrusų ežeras, Molėtų raj., Šiaulėnų artezinio gręžinio vanduo, Nr. 19108-5145, Gręžinio vanduo, Nr.10063-4222, Ešerinis ežeras, Molėtų raj., Kalvių ežeras, Kauno raj., Kauno marios, Didžiulio ežeras, Trakų raj.

Kiekvienas ekstraktas analizuojamas chromatografiškai po du kartus. Tirtuose vandens mėginiuose (ežerų, grėžinių) nebuvo aptikta chloro organinių pesticidų.

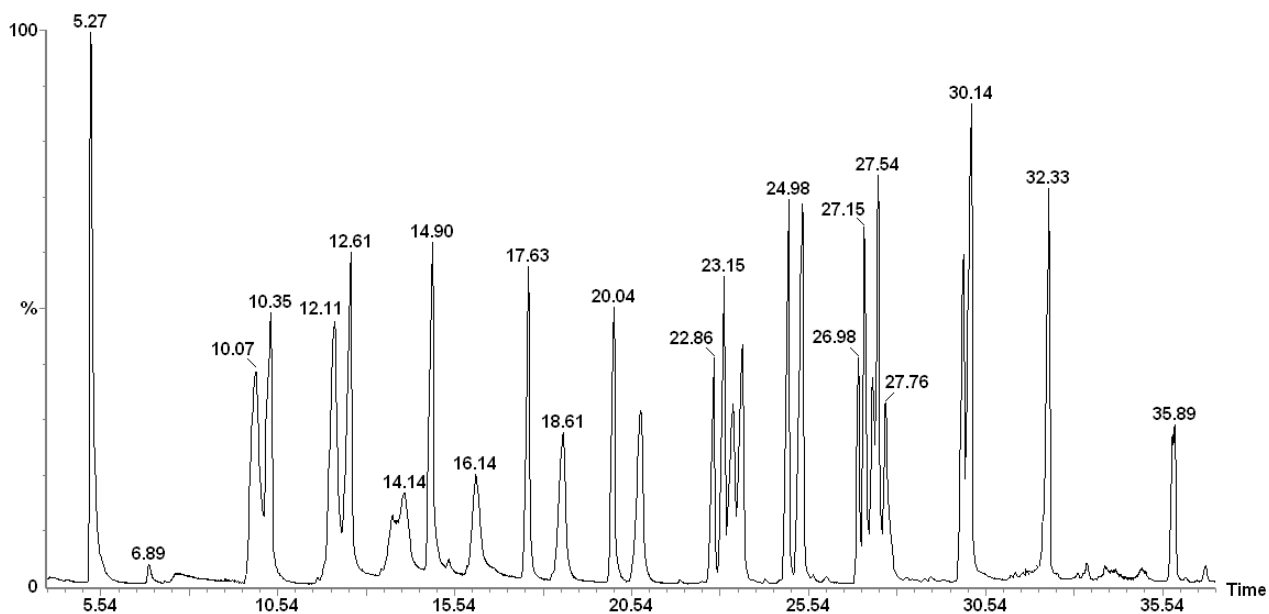


**4 pav.** Švento ežero chromatograma. Mėginys ekstrahuotas skysčių-skysčių ekstrakcijos metodu. Chromatografinės sąlygos pateiktos 2.3 skyriuje

### 3.2. Chloro organinių pesticidų dispersinė skysčių-skysčių mikroekstrakcija

Dispersinei skysčių-skysčių mikroekstrakcijai, kaip taisyklė, naudojami sunkesni už vandenį ekstrahentai. Tai dažniausiai būna chloro organiniai junginiai, kuriems labai jautrus elektronų gaudymo detektorius. Naudojant tokius ekstrahentus, geriau pasirinkti kitą, jiems ne tokį jautrų, detektorių. Todėl DSSME tyrimams buvo naudojamas dujų chromatografas *Clarus 580* su masių detektoriumi.

Pirmiausiai, naudojant standartinę 0,05  $\mu\text{g/ml}$  COP tirpalą heksane, buvo optimizuotos dujų chromatografinio perskyrimo sąlygos. Optimaliomis sąlygomis gauta chromatograma pateikta 5 pav.



**5 pav.** Standartinio chloro organinių pesticidų tirpalo chromatograma, gauta chromatografu *Clarus 580* su MS detektoriumi. Analčių koncentracijos 0,05 µg/ml. Sulaikymo trukmes atitinkantys junginiai pateikti 3 lentelėje

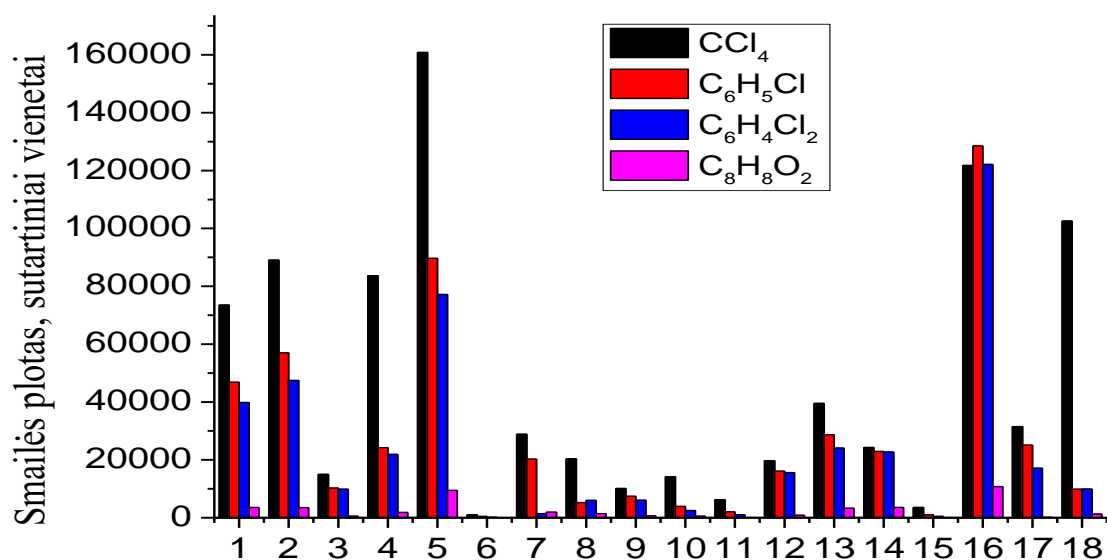
Masių spektrometrinis detektavimas buvo atliekamas skenavimo režime ( $m/z$  35–500). Analitės buvo identifikuojamos sulyginant jų masių spektrus su bibliotekoje pateiktais masių spektrais. Pasirinkto jono matavimo režimas žymiai jautresnis, todėl tinkamesnis kiekybiniam nustatymui. Kiekvienam junginiui pasirinkome 3 didžiausias impulso  $m/z$  vertes turinčius jonus. 3 lentelėje pateikiamos COP sulaikymo trukmės ir detektavimui pasirinkti jonai.

**3 lentelė.** Sulaikymo trukmės ir MS pasirinkto jono režime nustatomi jonai

Analitė	t <sub>R</sub> , min.	m/z
Pentachlorbenzenas	5,27	248, 250, 252
$\alpha$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\alpha$ -HCH)	10,07	181, 183, 217
Heksachlorbenzenas	10,35	249, 284, 286
$\beta$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\beta$ -HCH)	12,11	109, 181, 183
Lindanas ( $\gamma$ -HCH)	12,61	181, 183, 217
$\delta$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\delta$ -HCH)	14,90	181, 183, 217
Heptachloras	17,63	270, 272, 274
Aldrinas	20,04	149, 263, 293
Heptachlor-ekso-epoksidas	22,86	351, 353, 357
Heptachlor-endo-epoksidas	23,15	351, 353, 357
2,4'-DDE	24,98	246, 248, 318
Dieldrinas	26,98	237, 261, 263
4,4'-DDE	27,15	246, 248, 318
2,4'-DDD	27,54	165, 235, 237
Endrinas	27,76	263, 265, 279
4,4'-DDD	30,14	165, 235, 237
4,4'-DDT	32,33	165, 235, 237
Metoksichloras	35,89	152, 227, 228

Vienas iš svarbiausių etapų parenkant optimalias sąlygas dispersinei skysčių-skysčių mikroekstrakcijai yra ekstrahuojančio ir disperguojančio tirpiklių parinkimas. Tinkamai parinkus ekstrahuojantį ir disperguojantį tirpiklius, pasiekiamas didelis ekstrakcijos atrankumas bei labai sukonzentruojamos analitės. Ekstrahuojantis tirpiklis turi tenkinti reikalavimus: gerai tirpinti analites, tirpiklio smailė chromatogramoje turi gerai atsiskirti nuo analičių smailių, turi būti mažai tirpus vandenyje. Disperguojantis tirpiklis turi gerai maišytis tiek su vandeniu, tiek su ekstrahuojančiu tirpikliu.

Siekiant nustatyti geriausiai ekstrahuojantį tirpiklį, buvo ištirti 4 junginiai. Tai anglies tetrachloridas, chlorbenzenas, 1,2-dichlorbenzenas ir metilo benzoatas. DSSME buvo atliekama naudojant 800  $\mu$ l acetono ir 40  $\mu$ l atitinkamo ekstrahento. Centrifuguota 3 min. 5000 aps./min. greičiu. Rezultatai pateikiami 6 pav. Didžiausi visų pesticidų kiekiai buvo išekstrahuoti naudojant CCl<sub>4</sub>, tad šis ekstrahentas ir pasirinktas.

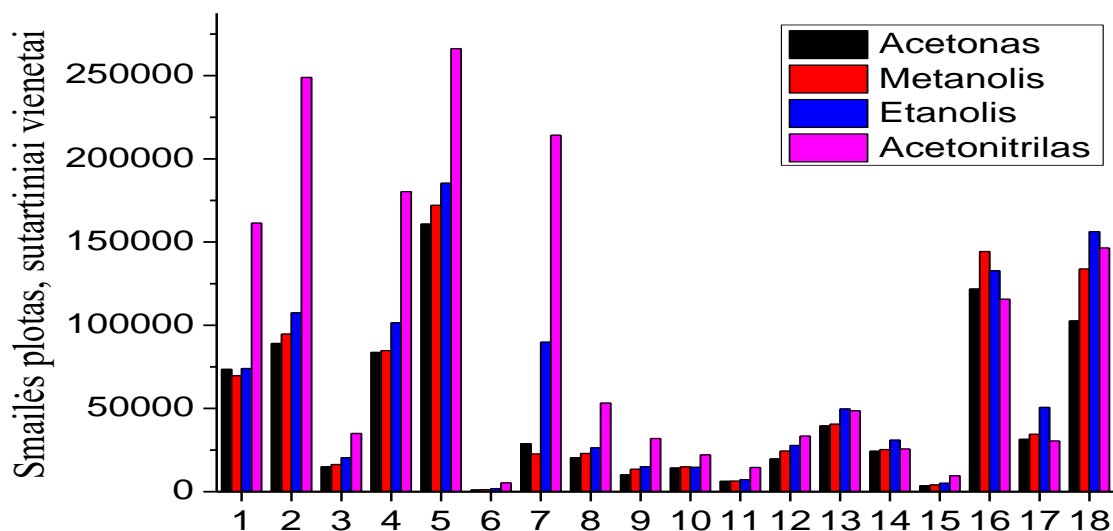


6 pav. Ekstrahuojančio tirpiklio įtaka ekstrakcijos efektyvumui. Ekstrahento tūris 40  $\mu$ l dispergento (acetone) tūris 800  $\mu$ l. Analitės išvardintos 4 lentelėje

4 lentelė. Analizių ir jas atitinkančių numerių grafike sąrašas

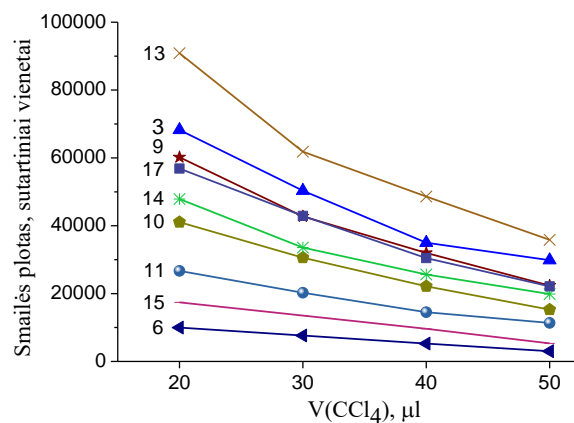
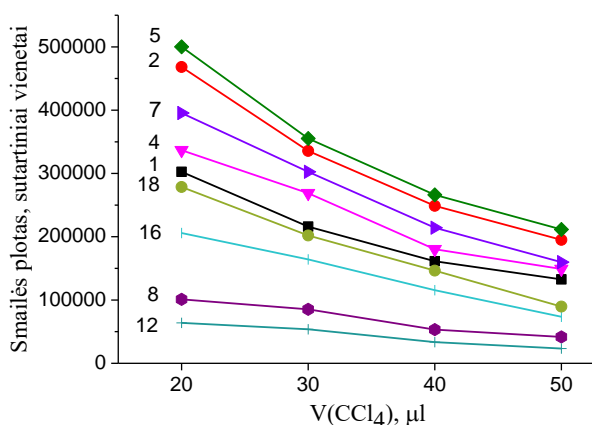
Analitės Nr. grafike	Analitė
1	Pentachlorbenzenas
2	$\alpha$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\alpha$ -HCH)
3	Heksachlorbenzenas
4	$\beta$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\beta$ -HCH)
5	Lindanas ( $\gamma$ -HCH)
6	$\delta$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\delta$ -HCH)
7	Heptachloras
8	Aldrinas
9	Heptachlor-ekso-epoksidas
10	Heptachlor-endo-epoksidas
11	2,4'-DDE
12	Dieldrinas
13	4,4'-DDE
14	2,4'-DDD
15	Endrinas
16	4,4'-DDD
17	4,4'-DDT
18	Metoksichloras

Disperguojančių tirpiklių pasirinkimas nėra didelis. Tai etanolis, metanolis, acetonas ir acetonitrilas. Šie tirpikliai buvo tirti. DSSME buvo atliekama naudojant 40  $\mu\text{l}$  anglies tetrachlorido ir 800  $\mu\text{l}$  dispergento (7 pav.). Didžiausi visų pesticidų kiekiai išekstrahuoti naudojant acetonitrilą, todėl šis dispergentas ir pasirinktas. 4 lentelėje nurodyta analičių ir jas atitinkančių numerių grafike sąrašas.



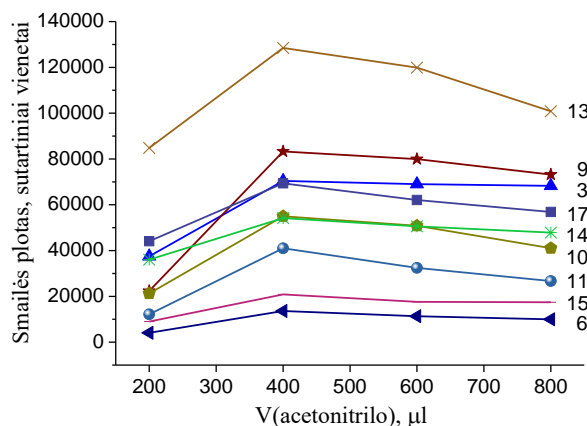
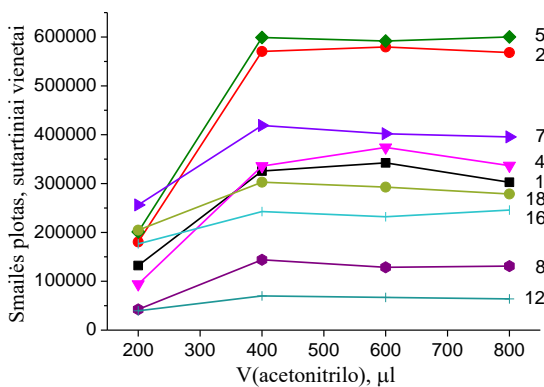
7 pav. Disperguojančio tirpiklio įtaka ekstrakcijos efektyvumui. Ekstrahento ( $\text{CCl}_4$ ) tūris 40  $\mu\text{l}$  dispergento tūris 800  $\mu\text{l}$ . Analitės išvardintos 4 lentelėje

Nustatytas optimalus ekstrahento kiekis. Šis parametras svarbus, kadangi kuo mažesnis ekstrahuojančio tirpiklio kiekis naudojamas, tuo analitės sukonzentruojamos geriau. Ekstrakcija buvo atliekama naudojant 15, 20, 30, 40 ir 50  $\mu\text{l}$  anglies tetrachlorido (8 pav.). Naudojant 15  $\mu\text{l}$  anglies tetrachlorido, susidaręs nusėdusios fazės tūris buvo nepakankamas atlikti tolimesnę analizę. Kaip matyti iš pateikto grafiko, ekstrakcijos efektyvumas didėjo, mažinant naudojamo ekstrahento kiekį. Optimalus ekstrahento kiekis 20  $\mu\text{l}$ . 4 lentelėje nurodyta analičių ir jas atitinkančių numerių grafike sąrašas.



**8 pav.** Ekstrahento tūrio įtaka ekstrakcijos efektyvumui. Ekstrahento (CCl<sub>4</sub>) tūris 20 µl.  
Analitės išvardintos 4 lentelėje

Disperguojančio tirpiklio kiekis turi įtakos emulsijos susidarymui, ekstrahuojančio tirpiklio dispergavimo laipsniui. Disperguojančio tirpiklio acetonitrilo kiekis buvo keičiamas nuo 200 iki 800 µl. Didžiausi analizuojamų medžiagų kiekiai gauti, kai disperguojančio tirpiklio naudojamas tūris 400–600 µl (9 pav.). Tolimesniam darbui pasirinkta 480 µl acetonitrilo. 4 lentelėje nurodyta analičių ir jas atitinkančių numerių grafike sąrašas.



**9 pav.** Dispergento tūrio įtaka ekstrakcijos efektyvumui. Dispergento (acetonitrilo) tūris 800 µl  
Analitės išvardintos 4 lentelėje

Kiekvienam tiriamam junginiui gauta kalibravimo kreivė, įvertintas metodo glaudumas bei aptikimo ribos. Siekiant geresnio rezultatų pasikartojamumo, naudotas vidinis standartas. Vidinis



standartas pasirinktas taip, kad jo smailė gerai atsiskirtų nuo analičių smailių ir jo sulaikymo trukmė būtų artima analičių sulaikymo trukmei. Brombenzenas pasirinktas kaip vidinis standartas.

Kalibravimo kreivės gautos analizuojant standartinius chloro organinių pesticidų tirpalus. Iš pradinio standartinio chloro organinių pesticidų tirpalo skiedžiant pagaminti penkių skirtingų koncentracijų tirpalai. Excel programos pagalba kiekvienai analitei nubraižyta kalibravimo kreivė ir suskaičiuoti tiesės lygčių parametrai. Pagal metodiką  $R^2$  turi būti didesnis už 0,990. Visų chloro organinių pesticidų kreivės buvo tiesinės,  $R^2$  reikšmės 0,9903–0,9999.

Metodo glaudumas įvertintas pakartojamumo sąlygomis, tiriant laboratorijoje paruoštą kontrolinį mėginį. Atliktos penkios pakartotinės ekstrakcijos su kontroliniais mėginiais, kurių koncentracija 0,01  $\mu\text{g/l}$  bei analizuoti gauti ekstraktai. Iš kalibravimo kreivės rasta analičių koncentracija ir apskaičiuotas metodo glaudumas kiekvienai analitei. Gauti rezultatai pateikti 5 lentelėje.

**5 lentelė.** Chloro organinių pesticidų nustatymo vandenyse glaudumas, (n = 5)

Analitė	$R^2$	Glaudumas (Sr), %
Pentachlorbenzenas	0,9987	10,9
$\alpha$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\alpha$ -HCH)	0,9965	19,3
Heksachlorbenzenas	0,9994	16,9
$\beta$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\beta$ -HCH)	0,9978	6,9
Lindanas ( $\gamma$ -HCH)	0,9999	18,3
$\delta$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\delta$ -HCH)	0,9939	6,5
Heptachloras	0,9912	4,3
Aldrinas	0,9903	4,6
Heptachlor-ekso-epoksidas	0,9960	13,9
Heptachlor-endo-epoksidas	0,9950	14,5
2,4'-DDE	0,9961	7,6
4,4'-DDE	0,9963	6,8
Dieldrinas	0,9964	17,4
2,4'-DDD	0,9982	10,4
Endrinas	0,9999	10,2
4,4'-DDD	0,9999	0,1
4,4'-DDT	0,9997	13,5
Metoksichloras	0,9948	1,2

Pagal Lietuvos higienos normos HN 24:2003 reikalavimus, kiekvienos analizės glaudumas turi būti  $\leq 25$  %. Kaip matyti iš 5 lentelės, visų 18 chloro organinių pesticidų metodo glaudumas tenkina reikalavimus.

Aptikimo riba įvertinta, tiriant laboratorijoje paruoštą kontrolinį mėginį. Atliktos penkios pakartotinės ekstrakcijos pagal anksčiau aprašytą procedūrą ir ekstraktai išanalizuoti. Iš kalibravimo kreivės rasta analičių koncentracija ir apskaičiuota metodo aptikimo riba kiekvienai analizei.

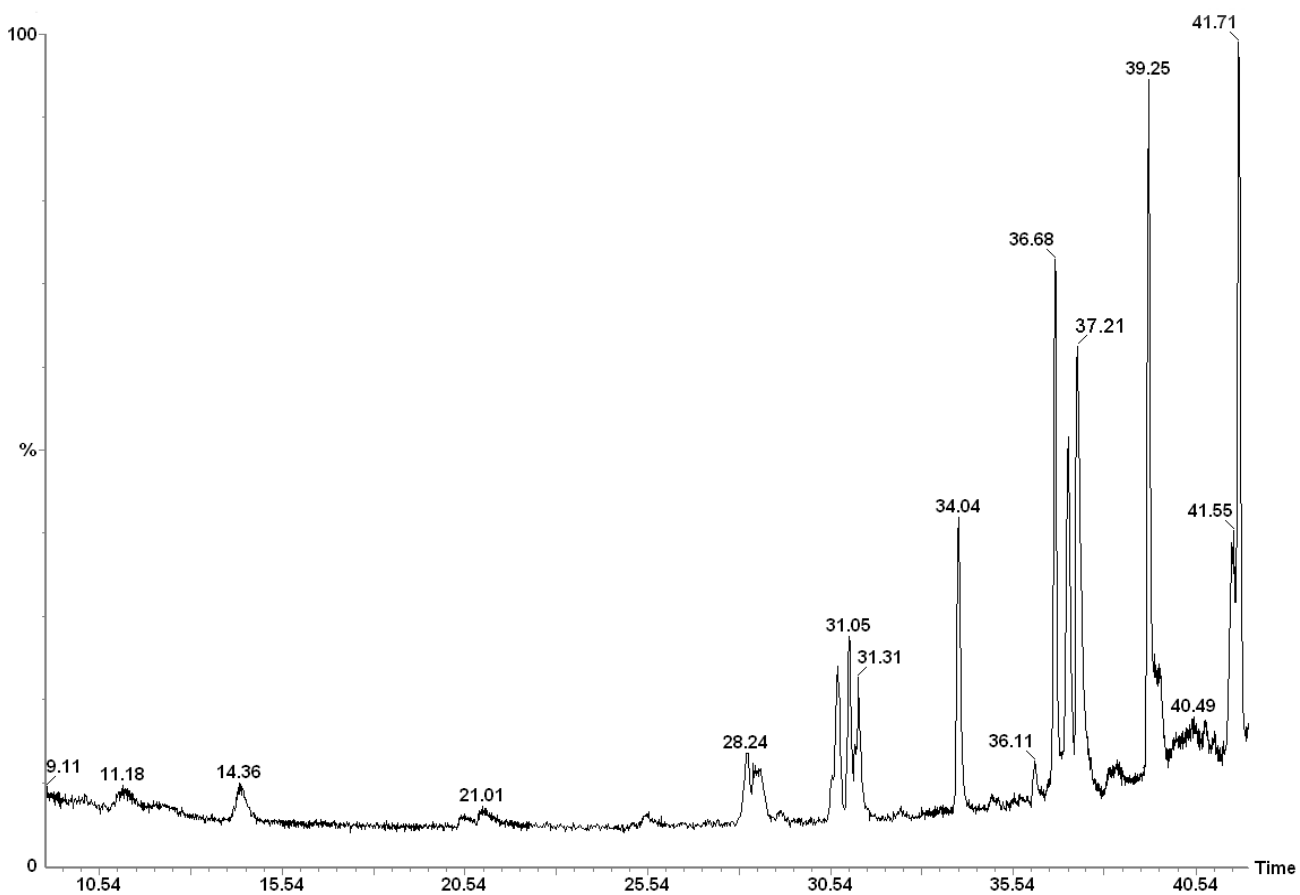
**6 lentelė.** Chloro organinių pesticidų nustatymo vandenyse aptikimo ribos

<b>Analitė</b>	<b>Aptikimo riba, <math>\mu\text{g/l}</math></b>	<b>Leistina riba, <math>\mu\text{g/l}</math> (pagal HN 24:2003)</b>
Pentachlorbenzenas	0,036	0,10
$\alpha$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\alpha$ -HCH)	0,019	0,10
Heksachlorbenzenas	0,052	0,10
$\beta$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\beta$ -HCH)	0,010	0,10
Lindanas ( $\gamma$ -HCH)	0,022	0,10
$\delta$ -Heksachlorcikloheksanas ( $\delta$ -HCH)	0,013	0,10
Heptachloras	0,013	0,030
Aldrinas	0,012	0,030
Heptachlor-ekso-epoksidas	0,086	0,030
Heptachlor-endo-epoksidas	0,081	0,030
2,4'-DDE	0,014	0,10
4,4'-DDE	0,017	0,10
Dieldrinas	0,103	0,030
2,4'-DDD	0,015	0,10
Endrinas	0,023	0,10
4,4'-DDD	0,001	0,10
4,4'-DDT	0,009	0,10
Metoksichloras	0,002	0,10

Pagal Lietuvos higienos normos HN 24:2003 reikalavimus, kiekvienos analizės aptikimo riba turi būti aldrino, heptachloro-endo-epoksido, heptachloro-ekso-epoksido, dieldrino ir heptachloro  $\leq 0,030$   $\mu\text{g/l}$ , visų likusių chloro organinių pesticidų  $\leq 0,10$   $\mu\text{g/l}$ . Heptachloro-endo-epoksido, heptachloro-ekso-epoksido ir dieldrino aptikimo ribos netenkina HN 24:2003 reikalavimų.

Paruošta dispersine skysčių-skysčių mikroekstrakcijos metodika ištirti 8 vandens mėginiai: Žeimenos upės vanduo ties Kaltanėnais, Neris vanduo Vilniuje ties Šilo tiltu, Baltijos jūros vanduo ties Palanga, Biržų Širvenos ežero vanduo, Palangos Ražės upės vanduo, Skapiškio ežeras, Adomynės dvaro tvenkinys, Varležerio ežero vanduo.

Kiekvienas ekstraktas analizuojamas chromatografiškai po du kartus. Tirtuose vandens mėginiuose (ežerų, upių) nebuvo aptikta chloro organinių pesticidų.



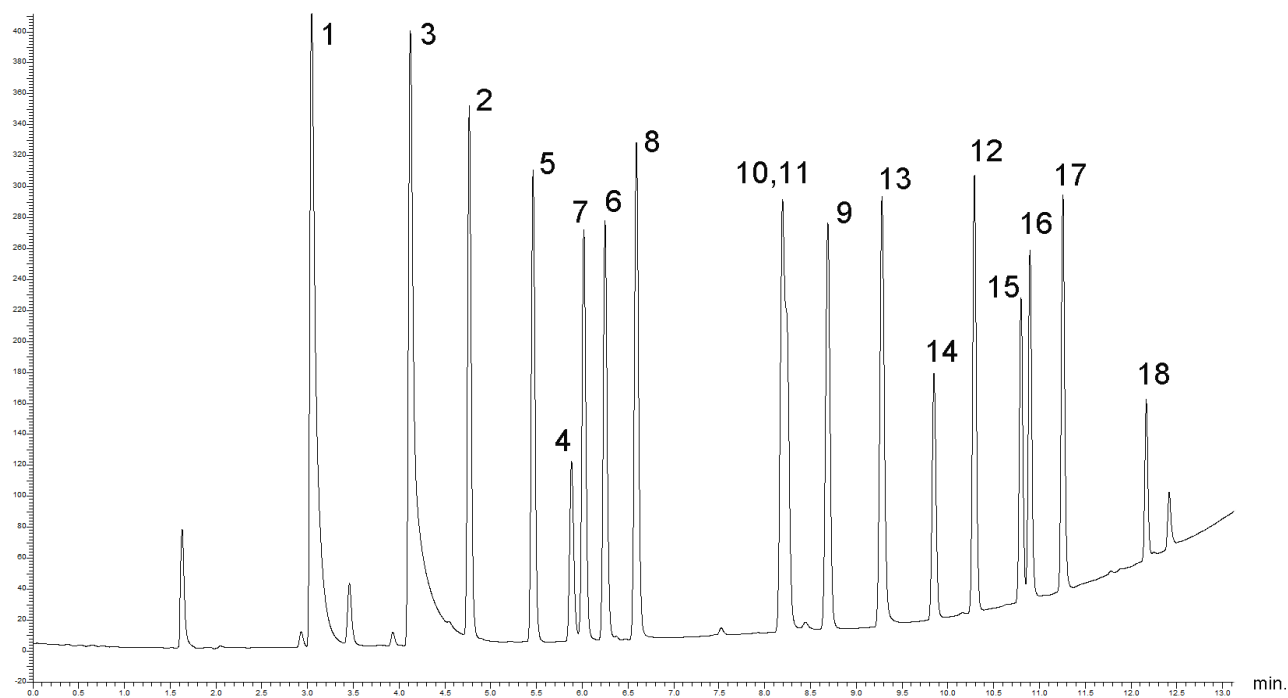
**10 pav.** Skapiškio ežero chromatograma. Mėginys ekstrahuotas dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos metodu. Chromatografinės sąlygos pateiktos 2.3 skyriuje.

MS identifikuoti alifatiniai angliavandeniliai: 28,24 min. – oktadekanas, 31,05 min. – eikozanas, 34,04 min. – dokošanas, 36,68 min. – tetrakozanas, 39,25 min. – heksakozanas, 41,71 min. – heptakozanas, 37,21 min. – dioktilftalatas

### 3.3. Chloro organinių pesticidų ekstrakcija su keičiamo hidrofiliškumo tirpikliais

Kaip buvo minėta literatūros apžvalgoje, keičiamo hidrofiliškumo tirpikliai homogeninei skysčių-skysčių mikroekstrakcijai pirmąkart buvo panaudoti 2015 metais. Iki šiol šia tema paskelbti vos trys straipsniai. Juose, kaip didžiulis homogeninės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos privalumas palyginus su DSSME, nurodoma galimybė nenaudoti kenksmingų aplinkai chlorintų ekstrahentų. Todėl buvo įdomu išbandyti šiuos tirpiklius ir chloro organinių pesticidų ekstrakcijai. Išbandyti 2-dibutilamino etanolis, N,N-dimetilheksilaminas, N,N-dietilbutilaminas, N,N-dimetilcikloheksilaminas ir dimetilaminobutiraldehido dietilacetalis. Normaliomis sąlygomis šie junginiai su vandeniu nesimaišo, tačiau vėdus ir KHF mišinį paveikus CO<sub>2</sub>, tirpikliai tampa hidrofilingi ir maišūs su vandeniu. Tam galima naudoti CO<sub>2</sub> dujas, bet pasirinktas patogesnis būdas ir naudotas sausas ledas.

Pirmiausiai, naudojant standartinį 0,05 µg/ml COP tirpalą heksane, buvo optimizuotos dujų chromatografinio perskyrimo sąlygos. Optimaliomis sąlygomis gauta chromatograma pateikta 11 pav.



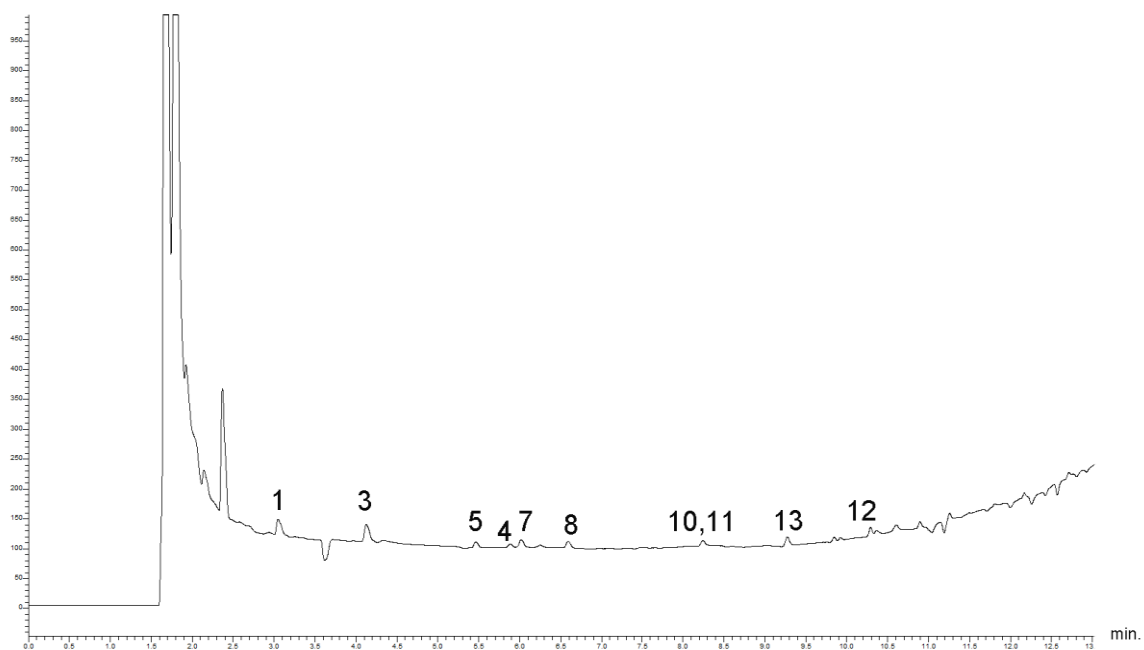
**11 pav.** Standartinio chloro organinių pesticidų tirpalo chromatograma, gauta chromatografu *Clarus 580* su elektronų gaudymo detektoriumi. Analizių koncentracijos 0,05 µg/ml. Analitės išvardintos 4 lentelėje

Gaminti kiekvieno iš minėtų tirpiklių tirpalai vandenyje. Į 100 ml tūrio užsukamus buteliukus pilta 10 ml tirpiklio, 10 ml dejonizuoto vandens ir dėtas sausas ledas tol, kol gaunasi vienalytė fazė. Šie tirpalai

naudoti pesticidų homogeninei skysčių-skysčių mikroekstrakcijai: į 10 ml siaurakaklę kolbutę pilta 8 ml 0,05 µg/ml vandeninio chloro organinių pesticidų tirpalo, 0,5 ml KHT vandeninio tirpalo. Supurtoma. Į susidariusį homogenišką tirpalą pilta 1 ml 20 mol/l NaOH tirpalo. Fazėms atsiskyrus, paimta 1 µl viršutinės organinės fazės ir analizuota dujų chromatografu *Clarus 580* su elektronų gaudymo detektoriumi.

Deja, lauktas ekstrakcijos efektyvumas nepasiektas. Kadangi keičiamo hidrofiliškumo tirpikliai yra elektronams giminingi junginiai, į juos labai jautriai reaguoja elektronų gaudymo detektorius. Chromatogramose nulinės linijos signalas buvo didžiulis (12 pav.), todėl smailių plotai buvo žymiai mažesni negu tokios pačios koncentracijos tirpalo, išekstrahuoto skysčių-skysčių ekstrakcijos metodu. Dar vienas ekstrakcijos keičiamo hidrofiliškumo tirpikliais trūkumas buvo KHT vandeninių tirpalų nestabilumas. Literatūroje nurodoma, kad anglies dioksidu prisotintas N,N-dimetilcikloheksilamino ir vandens mišinys sudaro vienalytę fazę, kuri išlieka stabili net 10 mėnesių [51]. Deja, pagamintas N,N-dimetilcikloheksilamino ir vandens tirpalas išsisluoksniavo į dvi fazes jau po 2 savaitių. Kiti tirpalai buvo dar nestabilesni, ir fazės atsiskyrė jau po kelių dienų. Tokius tirpalus naudoti nepatogu, jų gaminimas užtrunka daug ilgiau, negu DSSME ekstrahento-dispergento tirpalo gaminimas.

Atsižvelgiant į prastą ekstrakcijos efektyvumą, neigiamą ekstrahento įtaką elektronų gaudymo detektoriumi ir ekstrahuojančių tirpalų nestabilumą, nuspręsta toliau šio ekstrakcijos metodo nebetirti.



**12 pav.** 0,05 µg/ml vandeninio chloro organinių pesticidų tirpalo ekstrakcija su keičiamo hidrofiliškumo tirpikliais. Analitės išvardintos 4 lentelėje

### **3.4. Klasikinės skysčių-skysčių ekstrakcijos ir dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos palyginimas**

Abu tirtieji metodai, klasikinė skysčių-skysčių ekstrakcija ir DSSME, yra paprasti bei nereikalaujantys sudėtingos įrangos. Kiekvienas šių metodų turi privalumų ir trūkumų. Klasikinis skysčių-skysčių ekstrakcijos metodas taikomas daugelyje laboratorijų. Ekstrahuojant šiuo metodu siekiama, kad į ekstrahentą analitės pereitų pilnai, todėl analitės smarkiai sukonzentruojamos. Tačiau lyginant su DSSME (20 µl ekstrahento), ekstrahento tūris labai didelis (30 ml). Klasikinė skysčių-skysčių ekstrakcija trunka žymiai ilgiau: ekstrakcija trunka 10 min., po ekstrakcijos mėginys turi nusistovėti, kad pilnai atsiskirtų vandeninė ir organinė fazės (5 min.), mėginį reikia sukonzentruoti sukamuoju garintuvu, o paskui skiesti iki 1 ml tūrio (10 min.). DSSME nereikalauja daug papildomų procedūrų. Išvirkštus ekstrahento/dispergento mišinį į vandenį, ekstrahentas pasiskirsto smulkių lašelių pavidalu visame vandeninės fazės tūryje, todėl vandens-ekstrahento sąlyčio paviršiaus plotas yra labai didelis ir ekstrakcija įvyksta akimirksniu. Toliau mišinys centrifuguojamas 3 min. ir ekstrahentas drauge su analite nusėda ant ekstrakcinio indo dugno. Imamas 1 µl ekstrakto ir leidžiamas tiesiai į dujų chromatografą. Klasikinę skysčių-skysčių ekstrakciją patogiu naudoti, kai analizuojama daug mėginių, nes šis metodas yra automatizuotas.

DSSME sunaudojama ypatingai mažai organinių tirpiklių. Vadinasi metodas yra ekologiškas – toksiškais tirpikliais neteršiama aplinka.

Palyginus metodų analizines charakteristikas matyti, kad abu metodai tinka chloro organinių pesticidų nustatymui gamtiniuose vandenyse. Klasikinės skysčių-skysčių ekstrakcijos metodu gaunamos analičių aptikimo ribos yra mažesnės negu DSSME. Kita svarbi metodo charakteristika – glaudumas. Glaudumą apibūdinantys santykiniai standartiniai nuokrypiai buvo mažesni klasikinės skysčių-skysčių ekstrakcijos atveju. DSSME atveju glaudumas tenkina Lietuvos higienos normos HN 24:2003 keliamus reikalavimus.

## IŠVADOS

1. Remiantis LST EN ISO 6468:2000 metodu, buvo įsisavintas chloro organinių pesticidų nustatymo vandenyje metodas naudojant skysčių-skysčių ekstrakciją ir dujų chromatografinį nustatymą. Nustatytos metodo analizinės charakteristikos (kalibravimo kreivės tiesinis intervalas, glaudumas, aptikimo ribos). Metodas pritaikytas paviršinių bei gręžinio vandenų analizei.

2. Ištirtos chloro organinių pesticidų dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos galimybės ir nustatyta, kad DSSME tinkamas dispergentas yra acetonitrilas, o tinkamas ekstrahentas – anglies tetrachloridas. Vidinis standartas – brombenzenas.

3. Optimizuotos chloro organinių pesticidų dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos sąlygos. Ištyrus ekstrahento ir dispergento įtaką ekstrakcijos efektyvumui nustatyta, kad optimalus ekstrahento anglies tetrachlorido tūris yra 20  $\mu$ l, optimalus dispergento acetonitrilo tūris yra 480  $\mu$ l.

4. Palyginti klasikinės skysčių-skysčių ekstrakcijos ir dispersinės skysčių-skysčių mikroekstrakcijos metodai. Abu metodai tinka chloro organinių pesticidų nustatymui gamtiniuose vandenyse. Klasikiniame metode, ekstrahento tūris didelis (30 ml), palyginus su tūriu, naudojamu DSSME (20  $\mu$ l). DSSME pigesnis, greitesnis, nereikalaujantis daug darbo sąnaudų metodas, tačiau šiai dienai neautomatizuotas. DSSME – neskirta didelio masto analizėms.

# INVESTIGATION OF ORGANOCHLORINE PESTICIDE EXTRACTION METHODS

Rasa Karalkevičienė

Master thesis was carried out at the Vilnius University, Faculty of Chemistry,  
Department of Analytical and Environmental Chemistry

Research supervisor  
Prof., Dr. V. Vičkačkaitė

## SUMMARY

Determination of organochlorine pesticide (18) (4,4'-DDE, 4,4'-DDD, 4,4'-DDT,  $\alpha$ -hexachlorocyclohexane ( $\alpha$ -HCH), lindane ( $\gamma$ -HCH), heptachlor, aldrin, 2,4'-DDE, 2,4'-DDD,  $\beta$ -hexachlorocyclohexane ( $\beta$ -HCH),  $\delta$ -hexachlorocyclohexane ( $\delta$ -HCH), pentachlorobenzene, hexachlorobenzene, heptachlor exo-epoxide, heptachlor endo-epoxide, dieldrin, endrin, methoxychlor) in water was carried out by gas chromatographic method using electron capture detector and mass spectrometry detector.

DLLME is a very simple and rapid method for extraction and preconcentration of organic compounds from water samples. In this method, the appropriate mixture of extraction solvent and disperser solvent are injected into the aqueous sample by syringe, rapidly. Therefore, cloudy solution is formed. After centrifuging, the extraction solvent with the analytes is sedimented in the bottom of the conical test tube.

Carbon tetrachloride (20  $\mu$ l) was used as an extraction solvent, acetonitrile (480  $\mu$ l) was used as a disperser solvent in DLLME. For dispersive liquid liquid microextraction bromobenzene as an internal standart was used.

For liquid liquid extraction and DLLME linear ranges, accuracy and detection limits were determined. The comparison of the extraction methods was carried out. It was demonstrated that the both extraction methods can be applied for real water analysis.



## **PADĖKA**

Norėčiau padėkoti darbo vadovei, prof. (HP) dr. V. Vičkačkaitei, prof. habil. dr. A. Padaraskui, dr. J. Senvaitienei bei Nacionalinės sveikatos priežiūros laboratorijos bendradarbei R. Valentinavičiūtei už pagalbą rašant baigiamąjį darbą, atliekant matavimus, konsultacijas bei pasidalintu anglies tetrachloridu.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. A. R. Fernandez-Alba, L. Piedra, M. Mezcuca, M. D. Hernando. Toxicity of Single and Mixed Contaminants in Seawater Measured with Acute Toxicity Bioassays. *ScientificWorldJournal*, **2** (2002) 1115–1120.
2. *Pesticides in the Diets of Infants and Children* (Washington, D.C.: National Academy Press, 1993).
3. *Effects of Pesticides on Human Health*. Interneto svetainė <http://www.toxipedia.org/display/toxipedia/Effects+of+Pesticides+on+Human+Health> (žiūrėta 2016-02-15).
4. *Ką mes žinome apie patvariusius organinius teršalus (POT), jų savybes, sukliamas problemas? Kodėl POT yra ypač pavojingi žmogui ar aplinkai?* (Vilnius: LR Aplinkos ministerija, 2007).
5. *Stokholmo konvencija dėl patvariųjų organinių teršalų (POT)*. Interneto svetainė <https://www.e-tar.lt/portal/legalAct.html?documentId=TAR.E84E34D4E45B> (žiūrėta 2016-02-15).
6. *Listing of POPs in the Stockholm Convention*. Interneto svetainė <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs> (žiūrėta 2016-02-15).
7. E. van de Plassche, A. Schwegler, M. Rasenberg and G. Schouten. *Pentachlorobenzene*. Interneto svetainė <https://www.unece.org/fileadmin/DAM/env/lrtap/TaskForce/popsxg/2000-2003/pentachloorbenzeen.pdf> (žiūrėta 2016-02-15).
8. *PubChem Comp*. Interneto svetainė <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound> (žiūrėta 2016-02-15).
9. *Lindane, Hexachlorocyclohexane (Technical Grade), and Other Hexachlorocyclohexane Isomers*. Interneto svetainė <https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/content/profiles/lindane.pdf> (žiūrėta 2016-02-15).
10. *Heptachlor*. Interneto svetainė <https://www3.epa.gov/airtoxics/hlthef/heptachl.html> (žiūrėta 2016-02-15).
11. *Toxicological Profile for DDT, DDE, and DDD* (U.S. Department of Health and Human Services, 2002). Interneto svetainė <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp35.pdf> (žiūrėta 2016-02-29).
12. W. Zhang, Y. Ye, D. Hu, L. Ou, X. Wang. Characteristics and transport of organochlorine pesticides in urban environment: air, dust, rain, canopy throughfall, and runoff. *J. Environ. Monit.*, **12(11)** (2010) 2153–2160.

13. A. G. Smith. DDT and Other Chlorinated Insecticides. In: *Mammalian Toxicology of Insecticides* (Royal Society of Chemistry, 2012) 37–103.
14. R. H. Weldon, D. B. Barr, C. Trujillo, A. Bradman, N. Holland, B. Eskenazi. A pilot study of pesticides and PCBs in the breast milk of women residing in urban and agricultural communities of California. *J. Environ Monit.* **13(11)** (2011) 3136–3144.
15. P. Bützer. *Der ökologische „Sündenfall“ DDT (Dichlordiphenyltrichlorethan) oder Einige Lehrbücher der Ökologie müssten neu geschrieben werden.* Interneto svetainė <http://www.buetzer.info/fileadmin/pb/pdf-Dateien/DDT.pdf> (žiūrėta 2016-02-29).
16. M. Bahadir, H. Parlar, M. Spiteller. *Springer Umweltlexikon* (Springer, 2000) 260.
17. R. Wegler. *Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel* (Springer, 1970) 133.
18. K. Lohs, P. Elstner, U. Stephan. *Fachlexikon Toxikologie* (Springer, 2007) 122.
19. E. P. Hooker, K.G. Fulcher, H. J. Gibb. Aldrin and Dieldrin: A Reevaluation of the Cancer and Noncancer Dose-Response Assessments. *Risk Anal.*, **34(5)** (2014) 865–878.
20. *Toxicological Profile for Aldrin/Dieldrin* (U.S. Department of Health and Human Services, 2002) 1–6. Interneto svetainė <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp1.pdf> (žiūrėta 2016-02-29).
21. G. Matolcsy, M. Nadasy, V. Andriska. Pesticide Chemistry. *Studies in Environmental Science*, **32** (Elsevier Science, 1989) 73–78.
22. M. S. Walton, B. V. Beck, R. L. Baron. Subchronic toxicity of photodieldrin, a photodecomposition product of dieldrin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **20(1)** (1971) 82–88.
23. P. H. Howard. *Handbook of Environmental Fate and Exposure Data– For Organic Chemicals, III: Pesticides* (CRC Press, 1991) 268–272.
24. *Toxicological Profile for Endrin* (U.S. Department of Health and Human Services, 1996) 1–4. Interneto svetainė <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp89.pdf> (žiūrėta 2016-02-29).
25. *Toxicological Profile for Methoxychlor* (U.S. Department of Health and Human Services, 2002) 1–9. Interneto svetainė <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp47.pdf> (žiūrėta 2016-02-29).
26. K. L. Willett, E. M. Ulrich, R. A. Hites. Differential Toxicity and Environmental Fates of Hexachlorocyclohexane Isomers. *Environ. Sci. Technol.*, **32(15)** (1998) 2197–2207.
27. *Toxicological Profile for Alpha-, Beta-, Gamma-, and Delta-Hexachlorocyclohexane* (U.S. Department of Health and Human Services, 2005) 1–5. Interneto svetainė <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp43-p.pdf> (žiūrėta 2016-02-29).

28. Stoffbericht Hexachlorcyclohexan (HCH). *Texte und Berichte zur Altlastenbearbeitung*, **9** (Karlsruhe: Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg, 1993) 4–13.
29. *Toxicological Profile for Heptachlor and Heptachlor Epoxide* (U.S. Department of Health and Human Services, 2007) 1–7. Interneto svetainė <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp12.pdf> (žiūrėta 2016-02-29).
30. W. Munch (Ed.). *Method 508: Determination of Chlorinated Pesticides in Water by Gas Chromatography with an Electron Capture Detector. Revision 3.1*. Interneto svetainės <http://dec.alaska.gov/eh/docs/lab/dw/chem/organics/508.pdf> (žiūrėta 2016-02-29); <http://www.accustandard.com/assets/508.pdf> (žiūrėta 2016-02-29).
31. *Method 608: Organochlorine Pesticides and PCBs* (EPA, Promulgated 1984) Interneto svetainė [https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/method\\_608\\_1984.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/method_608_1984.pdf) (žiūrėta 2016-02-29).
32. *Sample Preparation Liquid/Liquid Extraction Techniques*. Interneto svetainė [http://www.chromacademy.com/lms/sco59/Sample\\_Preparation\\_Liquid-Liquid\\_Extraction\\_Techniques.pdf](http://www.chromacademy.com/lms/sco59/Sample_Preparation_Liquid-Liquid_Extraction_Techniques.pdf) (žiūrėta 2016-02-29).
33. E. Nakano, T. A. Kussumi, S. B. Rocha, V. R. R. Lemes, M. C. Cardeal de Oliveria, K. S. Ozawa. Method for pesticides analysis in water using C18 SPE disk extraction and GC/MS/MC triple quadrupole analysis with large volume injection. *CIPAC Symposium in Athens, Greece, 2015*. Interneto svetainė [http://cipac.org/images/pdf/2015/CardealDeOliveira\\_Summary\\_Poster\\_CIPAC\\_Symposium\\_2015.pdf](http://cipac.org/images/pdf/2015/CardealDeOliveira_Summary_Poster_CIPAC_Symposium_2015.pdf) (žiūrėta 2016-02-29).
34. Pesticides: So long, Troblemakers I. *GERSTEL Solutions Worldwide*, **11** (2011) 19–21. Interneto svetainė [http://www.gerstel.com/pdf/GST\\_GSW\\_11\\_page19-21\\_en.pdf](http://www.gerstel.com/pdf/GST_GSW_11_page19-21_en.pdf) (žiūrėta 2016-02-29).
35. H. Bagheri, A. Es'haghi, A. Es-haghi, E. Mohammadkhani. High-throughput micro-solid phase extraction on 96-well plate using dodecyl methacrylate-ethylen glycol dimethacrylate monolithic copolymer. *Anal Chim Acta*, **792** (2013) 59–65.
36. R. Durovic, T. Dordevic. Modern Extraction Techniques for Pesticide Residues Determination in Plant and Soil Samples. In: *Pesticides in the Modern World – Trends in Pesticides Analysis* (InTech, 2011) 221–236.

37. M. Rezaee, Y. Assadi, M.-R. M. Hosseini, E. Aghaee, F. Ahmadi, S. Berijani. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, **1116**(1–2) (2006) 1–9.
38. Z. Zhao, L. Zhang, J. Wu, M. Jin, Ch. Fan. Evaluation of dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-microelectron capture detection (GC- $\mu$ ECD) for the determination of organochlorine pesticides in water samples. *Anal Sci*, **27**(5) (2011) 547.
39. C. Cortada, L. Vidal, R. Pastor, N. Santiago, A. Canals. Determination of organochlorine pesticides in water samples by dispersive liquid–liquid microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. *Anal Chim Acta*, **649**(2) (2009) 218–221.
40. C. K. Zacharis, I. Rotsias, P. G. Zachariadis, A. Zotos. Dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of organochlorine pesticides residues in honey by gas chromatography-electron capture and ion trap mass spectrometric detection. *Food Chemistry*, **134**(3) (2012) 1665–1672.
41. Ch.-Ch. Chang, Sh.-Y. Wei, Sh.-D. Huang. Improved solvent collection system for a dispersive liquid–liquid microextraction of organochlorine pesticides from water using low-density organic solvent. *Journal of Separation Science*, **34**(7) (2011) 837–843.
42. E. Zhao, W. Zhao, L. Han, Sh. Jiang, Z. Zhou. Application of dispersive liquid–liquid microextraction for the analysis of organophosphorus pesticides in watermelon and cucumber. *Journal of Chromatography A*, **1175**(1) (2007) 137–140.
43. J. R. Vanderveen, J. Durelle, P. G. Jessop. Design and evaluation of switchable-hydrophilicity solvents. *Green Chem.*, **16** (2014) 1187–1197.
44. P. G. Jessop. Switchable Solvents as Media for Synthesis and Separations. *Aldrichimica Acta*, **48**(1) (2015) 18–21.
45. P. G. Jessop, S. M. Mercer, D. J. Heldebrant. CO<sub>2</sub>-triggered switchable solvents, surfactants, and other materials. *Energy Environ. Sci.*, **5** (2012) 7240–7253.
46. P. G. Jessop, Ch. A. Eckert, Ch. L. Liotta, D. J. Heldebrant. Switchable solvents and methods of use thereof. *U.S. Patent 8710265 B2* (2014).
47. V. M. Blasucci, R. Hart, P. Pollet, Ch. L. Liotta, Ch. A. Eckert. Reversible ionic liquids designed for facile separations. *Fluid Phase Equilibria*, **294**(1–2) (2010) 1–6.
48. L. Phan, H. Brown, J. White, A. Hodgson, P. G. Jessop. Soybean oil extraction and separation using switchable or expanded solvents. *Green Chem.*, **11** (2009) 53–59.

49. P. G. Jessop, L. Kozycz, Z. G. Rahami, D. Schoenmakers, A. R. Boyd, D. Wechsler, A. M. Holland. Tertiary amine solvents having switchable hydrophilicity. *Green Chem.*, **13** (2011) 619–623.
50. P. G. Jessop. Switchable solvents. *10th Green Chemistry Conference. An International Event. Barcelona-Spain, 2013*. Interneto svetainė <http://www.iuct.net/files/pdf/Jessop.pdf> (žiūrėta 2016-02-29).
51. G. Lasarte-Aragonés, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel. Use of switchable solvents in the microextraction context. *Talanta*. **131** (2015) 645-649.
52. G. Lasarte-Aragonés, R. Lucena, S. Cárdenas, M. Valcárcel. Use of switchable hydrophilicity solvents for the homogeneous liquid-liquid microextraction of triazine herbicides from environmental water samples. *J Sep Sci*. **38(6)** (2015) 990-995.
53. C. Vakh, A. Pochivalov, V. Andruch, L. Moskvina, A. Bulatov. A fully automated effervescence-assisted switchable solvent-based liquid phase microextraction procedure: Liquid chromatographic determination of ofloxacin in human urine samples. *Anal Chim Acta*. **11** (2016) 54-59.