

Mikroekstrakcija u čvrstoj fazi (SPME) u određivanju ostataka pesticida u uzorcima zemljišta

Rada Đurović

*Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Banatska 31b, 11080 Beograd
(Rada.Djurovic@pestring.org.rs)*

Primljen: 3. marta 2011.

Prihvaćen: 12. jula 2011.

REZIME

U radu su prikazani osnovni principi i mogućnosti primene metoda baziranih na mikroekstrakciji u čvrstoj fazi (SPME) u analitici ostataka pesticida u uzorcima zemljišta. Prikazani su i najvažniji eksperimentalni parametri koji utiču na efikasnost SPME određivanja pesticida (vrsta i debljina mikroekstrakcionog vlakna, trajanje mikroekstrakcije, temperatura na kojoj se ona izvodi, uticaj dodatka soli (efekat isoljavanja), temperatura i vreme desorpcije, izbor optimalnog rastvarača za ekstrakciju pesticida iz zemljišta i optimalan broj ekstrakcionih koraka), kao i opšte smernice za njihovu optimizaciju. Na kraju, navedene su i dosadašnje aplikacije SPME metoda u analitici ostataka pesticida u uzorcima zemljišta.

Ključne reči: Mikroekstrakcija u čvrstoj fazi (SPME); ostaci pesticida; zemljište

UVOD

Usled intenzivne primene pesticida, njihovi ostaci su postali neizostavni deo životne sredine, i danas se neretko detektuju u svim njenim segmentima, a zbog načina i količine primene, naročito u zemljištu (Maggioni i sar., 2009; Đurović i Đorđević, 2010a; Marković i sar., 2010).

Što se tiče analitike ostataka pesticida, ozbiljnija istraživanja u ovoj oblasti su počela sredinom XX veka, kao odgovor na početak ere organskih pesticida. I danas, kao i u to prvo vreme, kao „najkritičniji“ korak u procesu hemijske analize je priprema uzoraka, koja se generalno sastoji iz tri stupnja: 1) ekstrakcije, koja za cilj ima „izvlačenje“ ciljanih analita iz matriksa uzorka i njihovo prevodenje u medijum pogodan za dalju analizu; 2) koncentrovanja, odnosno povećanja koncentracije ekstrahovanih

analita u cilju povećanja osetljivosti analize i 3) prečišćavanja, odnosno izolovanja ciljanih analita od ostalih frakcija matriksa uzorka koji su koekstrahovali i mogu da interferiraju sa analitima. Koliko je značajan korak pripreme uzoraka u analitici tragova, svedoče i četiri pregledna rada publikovana u poslednjih nekoliko godina, koja se odnose na ovu problematiku (Andreu i Picó, 2004; Raynie, 2004; Raynie, 2006; Sunarso i Ismadji, 2009).

S obzirom da tradicionalne metode pripreme uzoraka zemljišta (npr. tečno-čvrsta ekstrakcija (LSE) i ekstrakcija po Soxhletu) dugo traju, da koriste uglavnom toksične organske rastvarače i procedure koje se sastoje iz više koraka, pa samim tim često rezultiraju i određenim gubitkom analita, da imaju kancerogeni efekat i da učestvuju u oštećenju ozonskog omotača, trend u analitici ostataka pesticida je u razvoju novih pristupa, koji za cilj imaju prevazilaženje

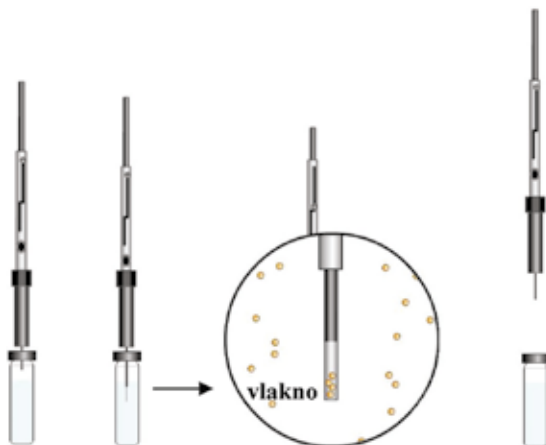
pomenutih problema. Kao jedno od rešenja, javila se i SPME tehnika, o kojoj će biti reči u daljem tekstu.

MIKROEKSTRAKCIJA U ČVRSTOJ FAZI (Solid Phase Microextraction, SPME)

Osnove SPME tehnike su postavljene na Waterloo Univerzitetu (Ontario, Kanada) 1989. godine (Belardi i Pawliszyn). Referenca o primeni prvog SPME uređaja je publikovana 1990. godine (Arthur i Pawliszyn), a prvi komercijalni uređaj sa špricom se pojavio 1993. godine (Supelco) (Pawliszyn, 1997a).

Osnovni deo SPME sistema predstavlja tzv. SPME špric, koji podseća na hromatografski, s tom razlikom što sadrži 1 cm dugo vlakno smešteno unutar igle šprica, koje je napravljeno od odgovarajućeg polimera nanešenog na nosač od topljenog SiO₂, prečnika od 110 μm. Proces mikroekstrakcije se zasniva na preraspodeli analita između ekstrakcionog medijuma (vlakno) i matriksa uzorka, odnosno na selektivnoj sorpciji ciljanih analita u aktivnom sloju vlakna i direktnoj desorpciji u injektoru hromatografa.

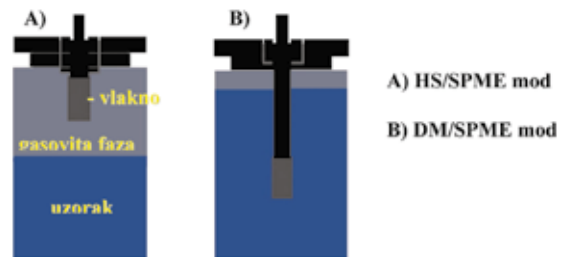
Postupak SPME se sastoji iz nekoliko koraka, pri čemu je osnovni princip mikroekstrakcije analita iz rastvora prikazan na slici 1. Pre same analize, vlakno je uvučeno u metalnu cevčicu SPME šprica. Posle probijanja septuma bočice u koju je prethodno stavljena određena zapremina uzorka, vlakno se izvlači iz metalne zaštite, tj. izlaže uzorku spuštanjem klipa šprica. Nakon određenog vremena, vlakno sa sorbovanim analitima se ponovo uvlači u iglu, koja se izvlači iz bočice. Sorbovani analiti se desorbuju sa vlakna uvođenjem igle SPME šprica u injektor hromatografskog sistema (termalna desorpcija u slučaju gasnog hromatografa (GC), odnosno eluiranjem rastvaračem u slučaju tečnog hromatografa (LC)).



Slika 1. Postupak mikroekstrakcije analita iz rastvora

S obzirom na svoju jednostavnost i efektivnost, činjenice da ne zahteva upotrebu organskih rastvarača, i da se koraci prečišćavanja i koncentrovanja ekstrakta uzorka (ispitivanih analita) izvode istovremeno, SPME tehnika se sve više koristi u analitici ostataka pesticida u uzorcima različitog porekla. U poređenju sa ostalim ekstrakcionim tehnikama, SPME metoda zahteva znatno kraće vreme analize. Na primer, za određivanje sadržaja organohlorinih pesticida u hrani ili drugim uzorcima, na LSE se troši 4-18 h, na SPE (ekstrakcija u čvrstoj fazi) 2-3 h, a za SPME 0,5-1 h po uzorku (Buletin 923A, 1999). Dodatno, LSE i SPE tehnikama se uvek unose i određeni kontaminanti u finalni uzorak koji treba da se injektira u hromatograf, što rezultira većim šumom u toku analize. Takođe, SPME tehnika zahteva male količine uzorka za rad, ne zahteva upotrebu organskih rastvarača, a zbog izražene selektivnosti, šum je neznan, što sve zajedno znatno olakšava identifikaciju i kvantifikaciju analita.

SPME je ravnotežna tehnika u kojoj se analiti raspodeljuju između tri faze: uzorak, gasovita faza i vlakno (Slika 2). Vlaknom se pri tome ne izvlači celokupna količina analita prisutna u uzorku, ali se odgovarajućom kalibracijom ova tehnika može koristiti i za uspešnu kvantifikaciju (Đurović, 2006; Đurović i sar., 2007). Količina analita koja će se pri tome sorbovati na vlakno, zavisiće od niza faktora: debljine i polarosti aktivnog sloja vlakna, načina uzorkovanja (direktno uzorkovanje – mikroekstrakcija iz rastvora, DM/SPME i „headspace“ uzorkovanje – mikroekstrakcija iz gasovite faze, HS/SPME), prirode uzorka i analita (polarosti analita, njegove molekulske mase, pH vrednosti sredine, prirode matriksa), načina i brzine mešanja uzorka, trajanja mikroekstrakcije, temperature na kojoj se ona izvodi, itd.



Slika 2. Radni SPME modovi

OPTIMIZACIJA SPME METODE

Da bi jedna SPME metoda zadovoljila sve najvažnije analitičke parametre (linearnost, osetljivost, preciznost, ponovljivost, pouzdanost i granica detekcije), potrebno

je izvršiti njenu adekvatnu optimizaciju, što podrazumeva izbor vlakna i debljine njegovog aktivnog sloja, optimizaciju eksperimentalnih parametara vezanih za proces mikroekstrakcije (temperatura, način i brzina mešanja uzorka, uticaj efekta izoljavanja, trajanje mikroekstrakcije, itd.) i optimizaciju vremena i temperature desorpcije.

IZBOR SPME VLAKNA

Danas je u upotrebi tridesetak različitih tipova vlakana (različite vrste polimera i njihove debljine), tako da je pri izboru vlakna za rad neophodno uzeti u obzir nekoliko faktora: molekulska masu, strukturu i polarlost molekula analita, polarlost vlakna, mehanizam ekstrakcije (korišćeni način uzorkovanja), granicu detekcije i opseg linearnosti koji se žele postići. Da bi određeni aktivni sloj vlakna ekstrahovao određena jedinjenja iz datog matriksa, mora imati mnogo veći afinitet prema datim analitima nego što to ima matriks, pri čemu važi opšte pravilo da se nepolarni analiti efikasnije ekstrahuju nepolarnim aktivnim slojem vlakna, tj. polarni polarnim. Istraživanja sprovedena u oblasti ostataka pesticida ukazuju da su u najvećem broju slučajeva vlakna sa izrazito nepolarnim polidimetil-siloksanskim (PDMS) i izuzetno polarnim poliakrilatnim (PA) aktivnim slojevima najefikasnija u analizama uzoraka različitog porekla (Doong i Liao, 2001; Sakamoto i Tsutsumi, 2004; Đurović, 2006; Đurović i sar., 2007; 2007a; 2010; 2010c; Fernandez-Alvarez i sar., 2008), tako da će u ovom radu biti prikazane osnovne karakteristike samo ova dva mikroekstrakciona sorbenta.

PDMS je polimerni materijal koji je u obliku tečnog filma nanešen na čvrsti nosač (stopljeni SiO₂) i efikasan je za uzorkovanje nepolarnih analita. Međutim, posle odgovarajuće optimizacije ekstrakcionih uslova kao što su temperatura, pH, primenjeni ekstrakcioni mod, itd., može se primeniti i za određivanja semipolarnih jedinjenja. Danas postoje tri varijante vlakna sa PDMS-om kao aktivnim slojem (100 μm, 30 μm i 7 μm). Vlaknom sa debljim aktivnim slojem (100 μm) se uglavnom ekstrahuje veća količina datog analita nego sa tanjim slojem. Uopšteno, vlakno sa debljim aktivnim slojem se preporučuje za rad sa isparljivim jedinjenjima, dok se efikasnija adsorpcija slabije isparljivih analita postiže pomoću tanjih aktivnih slojeva (30 μm i 7 μm). Za praktičan rad treba izabrati vlakno najtanjeg aktivnog sloja sa kojim se postiže željena granica detekcije. Ovo naročito važi kada se radi sa teže isparljivim jedinjenjima za koja je potrebna viša temperatura i duže

vreme desorpcije, tj. kod kojih postoji opasnost zaostajanja određene količine analita na aktivnom sloju posle desorpcije, što može znatno da utiče na sledeću ekstrakciju izvršenu istim vlaknom. PDMS vlakno se može koristiti i u kombinaciji sa GC-om (po preporuci proizvođača, temperatura injektora ne bi trebalo da prelazi 280°C za vlakna sa debljinom aktivnog sloja od 100 i 30 μm, tj. 340°C za 7 μm) i sa HPLC-om.

Dok je PDMS izrazito nepolarna, PA je izrazito polarna faza, što znači da je pogodan za analizu polarnih jedinjenja u matriksima manje polarlosti. Danas je komercijalno dostupno samo PA vlakno sa debljinom polimernog sloja od 85 μm, pri čemu se ono može koristiti i u kombinaciji sa GC (temperatura injektora ne bi trebalo da prelazi 320°C) i sa HPLC sistemom.

OPTIMIZACIJA USLOVA DESORPCIJE

Nakon izbora vlakna, potrebno je odrediti optimalne uslove za transfer analita u hromatografski sistem. Sorbovani analiti se uvođenjem igle SPME šprica u injektor hromatografskog sistema desorbuju sa vlakna, i to termalno u GC, tj. eluiranjem rastvaračem u LC. Definisane parametara desorpcije obuhvata određivanje optimalne temperature injektora, brzine protoka nosećeg gasa i vremena desorpcije u slučaju GC, tj. pravilni izbor eluirajućeg rastvarača i vremena desorpcije ukoliko se radi sa HPLC. Kao pokazatelj efikasnosti desorpcije se uvek koristi naknadna desorpcija vlakna (vlakno nije opterećeno analitima) koja pri datim uslovima ne treba da daje signal na detektoru.

OPTIMIZACIJA USLOVA EKSTRAKCIJE

Najvažniji analitički parametri (brzina, osetljivost, tačnost i preciznost) su praktično određeni procesom ekstrakcije, kada se koristi SPME tehnika. Sa druge strane, desorpcija, koja je u bliskoj vezi sa efikasnošću hromatografskog razdvajanja i preciznošću kvantifikacije, ima veliki uticaj na kvalitet podataka koji se dobijaju i na primenljivost SPME tehnike.

Kao što je već napomenuto, SPME je ravnotežni metod uzorkovanja koji se na osnovu odgovarajuće kalibracije može koristiti za kvantifikaciju analita u matriksu uzorka. U slučaju uranjanja vlakna u ispitivani medijum (direktno uzorkovanje), ravnoteža se uspostavlja na granici faza vlakno/rastvor i rastvor/gasovita faza, a kada se radi ekstrakcija iz parne faze („headspace“ uzorkovanje), na granicama vlakno/gas i gas/rastvor. Količina

sorbovana na vlaknu i vreme uravnotežavanja zavisiće od debljine i polarnosti aktivnog sloja vlakna, distribucionih konstanti analita i eksperimentalnih uslova (način i brzina mešanja uzorka, temperatura, itd.). Iako se maksimalna osetljivost SPME metode postiže na ravnotežnim vremenima, iz praktičnih razloga ekstrakciono vreme se može skratiti (Pawliszyn, 1997; Đurović, 2006, 2010; Đurović i sar., 2007, 2010b, 2010c).

Najefikasniji načini da se prevaziđu ograničenja koja proizilaze usled kinetike samog procesa sorpcije na vlakno (niska osetljivost, dugo ravnotežno vreme, itd.) su zagrevanje i efikasno mešanje uzorka. Ovo je naročito izraženo u slučaju „headspace“ uzorkovanja.

Temperatura na kojoj se izvodi ekstrakcija ima dva suprotna efekta na SPME proces. S jedne strane, povišenje temperature pojačava maseni transfer analita iz matriksa uzorka na vlakno (povećanje difuzionog koeficijenta analita), dok s druge strane, usled istovremenog zagrevanja samog vlakna za vreme ekstrakcije, dolazi do pojačane desorpcije sa njega (smanjenje distribucionih konstanti). Iz ovih razloga, neophodan korak pri razvijanju metode je i optimizacija temperature ekstrakcije.

Brzina ekstrakcije je određena i efikasnošću mešanja uzorka. Intenzivnije mešanje povećava pokretljivost analita, pa samim tim skraćuje ravnotežno vreme i povećava količinu analita sorbovanu na vlakno. Ovo je naročito izraženo za teže molekule i kompleksnije matrikse. Istraživanja su pokazala da efikasnost ekstrakcije u velikoj meri zavisi i od primenjene tehnike mešanja (Louch i sar., 1992; Zhang i Pawliszyn, 1993). Pri razvijanju metode treba ipak imati u vidu da mešanje uzorka dovodi i do njegovog zagrevanja, što može imati i neželjene efekte kada se radi u direktnom modu (smanjenje distribucione konstante).

Na efikasnost SPME u velikoj meri utiče priroda samog matriksa. Pošto su i distribicioni koeficijenti analita delimično određeni interakcijama između analita i matriksa, adekvatnom modifikacijom matriksa mogu se povećati podeoni koeficijenti ciljanih analita. Tako se npr. u prisutstvu hlorida i sulfata povećava jonska jačina rastvora, što veliki broj jedinjenja čini manje rastvornim. Na ovaj način, slabljenjem interakcije matriks/analit, distribicioni koeficijenti se znatno mogu povećati (Arthur i sar., 1992; Buchholz i Pawliszyn, 1994).

Što se tiče kvantitativne analize, u slučaju analize uzorka vazduha, kalibracija se jednostavno izvodi. Pošto se uzorkovanje vrši u otvorenom prostoru ili velikoj zapremini uzorka vazduha, količina analita ekstrahovana SPME tehnikom linearno zavisi od podeonog koeficijenta koji zavisi od vlažnosti i temperature. Koncentracija analita

u vazduhu se, tako, određuje direktno iz odgovora gasno hromatografskog detektora uz korekcije za vlažnost i temperaturu (Pawliszyn, 1997).

Za relativno čiste uzorke, tj. uzorke sa malim udelom organske materije, kao što je npr. voda za piće, adekvatno rešenje je eksterna kalibracija, koja se obično izvodi tako što se dodaje poznata količina traženih analita u čisti matriks, a zatim izvede SPME analiza. Koncentracije ispitivanih analita u nepoznatom uzorku se određuju poređenjem dobijenog signala sa detektora u odnosu na kalibracionu krivu.

Za uzorke sa kompleksnijim matriksima, poželjnije je koristiti metode standardnog dodatka ili internog standarda. Ako se koristi interni standard, njegov podeoni koeficijent mora biti sličan podeonim koeficijentima ciljanih analita. Ukoliko se radi sa masenim spektrometrom (MS) kao detektorom, izotopski obeleženi analozi traženih analita su najbolji interni standardi, pošto su njihove hemijske i fizičke osobine slične onima kao kod ispitivanih analita.

Sve do sada rečeno se pre svega odnosi na slučajeve kada se koristi direktno SPME uzorkovanje, tj. u situacijama kada je efekat matriksa jako izražen. Međutim, ukoliko se koristi uzorkovanje iz gasovite faze („headspace“ uzorkovanje), efekat matriksa se može zanemariti, tj. sve metode kalibracije će biti adekvatne.

Generalno, direktno uzorkovanje se preporučuje za uzorke relativno čistih matriksa (npr. uzorci vode), dok se za praktično sve ostale uzorke preferira ekstrakcija iz gasovite faze. Na taj način samo vlakno se štiti od dejstva neželjenih koekstraktanata iz kompleksnog matriksa uzorka, a posledično, produžava se i vek njegovog trajanja.

SPME U ODREĐIVANJU OSTATAKA PESTICIDA U ZEMLJIŠTU

Iako SPME tehnika datira još od 1989. godine, prve primene u analitici ostataka pesticida su opisane tek 1994. godine (Eisert i sar., 1994; Popp i sar., 1994). Ova dva, kao i niz radova koji su ubrzo usledili, a odnosili su se na ovu problematiku, bili su posvećeni analizi različitih uzoraka vode. Tako se, po podacima Eisert-a i Levsen-a iz 1996. godine, od 55 publikacija na temu SPME, 10 referenci odnosilo na određivanje ostataka pesticida u vodi.

Vremenom, kako su istraživanja vezana za ovu tehniku napredovala i ukazivala na njene mogućnosti i pogodnosti, interesovanje analitičara koji se bave problematikom ostataka pesticida je raslo, o čemu svedoči sve

veći broj publikacija na ovu temu. Tako se npr. prema podacima Beltran-a i saradnika, do 2000. godine, od 400 radova objavljenih na temu SPME, 60 odnosilo na problematiku ostataka pesticida.

Kako se SPME tehnika pokazala vrlo efikasnom za određivanje ostataka pesticida u uzorcima vode, počela su i intenzivnija istraživanja vezana za primenu ove tehnike u analizi uzoraka sa znatno kompleksnijim matriksima kao što su povrće, voće, voćni sokovi, vino, med, zemljište, itd. S obzirom na karakteristike SPME tehnike, tj. činjenicu da je to jednostepena metoda koja ne zahteva dodatno koncentrovanje i prečišćavanje uzorka, u analizi ovakvih uzoraka javljaju se problemi pre svega vezani za matriks. Dosadašnja istraživanja su pokazala da se negativan efekat matriksa može znatno ublažiti adekvatnim razblaženjem uzorka destilovanom vodom (Boyd-Boland i sar., 1995, 1996; Simplício i Boas, 1995; Urruty i sar., 1997; Vitali i sar., 1998; Đurović, 2006; Đurović i sar., 2007b, 2008). Tako se npr. efikasnost ekstrakcije pesticida iz krušaka i soka kruške može povećati čak 6-7 puta razblaženjem uzorka od 50 puta (Simplício i Boas, 1999), tj. 5-27 puta za uzorke jabuka razblaženjem soka uzorka od 100 puta (Đurović, 2006). Do sličnog zaključka došao je Jimenez sa saradnicima (1998) poredeći efekat razblaženja od 5 i 50 puta pri određivanju organohlorinih i organofosforinih pesticida u medu.

Iako se, generalno, princip SPME metode zasniva na određivanju (mikroekstrakciji) jedinjenja iz vodene matrice, novija istraživanja govore da su metode zasnovane na SPME određivanju analita u uzorcima zemljišta, u kombinaciji sa tradicionalnom tečno/čvrstom pripremom uzoraka i sa odgovarajućim razblaženjem dobijenog ekstrakta vodom znatno osetljivije, da daju veće prinose (recoveries) i veći opseg linearnosti (Prosen i Zupancic-Kralj, 1998; Bouaid i sar., 2001; Lambropoulou i Albanis, 2004) u odnosu na SPME određivanja bazirana na analizi smeše zemljišta i vode, bez obzira da li se ekstrakcioni medijum postavlja direktno u ovu suspenziju (Magdic i sar., 1996) ili se uzorkovanje vrši iz gasovite faze (Ng i sar., 1999; Castro i sar., 2001; Doong i Liao, 2001; Navalón i sar., 2002; Zhao i sar., 2006; Fernandez-Alvarez, 2008).

Većina do sada predloženih metoda je fokusirana na istovremeno određivanje pesticida koji na osnovu svoje strukture pripadaju samo jednoj (organofosforini (Magdic i sar., 1996; Ng i sar., 1999), oksadiazoli (Navalón i sar., 2002), organohlorini (Doong i Liao, 2001; Herbert i sar., 2006; Vega Moreno i sar., 2006, 2006a; Zhao i sar., 2006) ili dvema grupama pesticida (triazini i organofosforini (Bouaid i sar., 2001; Đurović i sar., 2010b),

triazini i organohlorini (Prosen i Zupancic-Kralj, 1998), triazini i uracili (Hernandez i sar., 2000), anilinopirimidini i strobilurini (Navalón i sar., 2004), triazini i karbamati (Möder i sar., 1999), pirazoli i oksadiazoli (Navalón i sar., 2001), hlorofenili i dikarboksimidi (Lambropoulou i Albanis, 2004)). Tačnije, u literaturi se mogu naći samo četiri publikacije koje se odnose na SPME određivanje ostataka pesticida u zemljištu, a koji pri tome pripadaju različitim grupama pesticida. Dve aplikacije se pri tome zasnivaju na HS/SPME analizi zemljišta uz dodatak vode, i to u udelu od 50% (v/w) (Fernandez-Alvarez i sar., 2008) i 10% (v/w) (Castro i sar., 2001), dok su preostale dve bazirane na klasičnoj ekstrakciji zemljišta organskim rastvaračima praćenoj DM/SPME određivanjem pesticida (Đurović i sar., 2008, 2010c).

Uzimajući sve izloženo u obzir, može se zaključiti da su metode zasnovane na SPME određivanju pesticida dobra alternativa za tradicionalne metode pripreme uzoraka zemljišta. S obzirom na dobru selektivnost i osetljivost SPME određivanja pesticida, činjenice da ove metode ne zahtevaju upotrebu velikih količina rastvarača, da su male količine uzorka potrebne za rad (nekoliko grama), da se stupnjevi prečišćavanja i koncentrovanja izvode u istom koraku, itd., za očekivati je sve veću implementaciju SPME metoda u rutinska ispitivanja.

ZAHVALNICA

Ovaj rad je realizovan kao deo projekta TR31043 Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije.

LITERATURA

- Andreu, V. and Picó, Y.*: Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *Trends in Analytical Chemistry*, 23: 772-789, 2004.
- Arthur, C.L. and Pawliszyn, J.*: Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, 62: 2145-2148, 1990.
- Arthur, C.L., Killam, L.M., Buchholz, K.D., Pawliszyn, J. and Berg, J.R.*: Automation and optimization of solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 64: 1960-1966, 1992.
- Belardi, R.P. and Pawliszyn, J.*: Application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to

capillary columns. *Water Pollution Research Journal of Canada*, 24: 179-187, 1989.

Beltran, J., López, F.J. and Hernández, F.: Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A*, 885: 389-404, 2000.

Bouaid, A., Ramos, L., Gonzalez, M., Fernandez, P. and Camara, C.: Solid-phase microextraction method for the determination of atrazine and four organophosphorus pesticides in soil samples by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 939: 13-21, 2001.

Boyd-Boland, A. and Pawliszyn, J.: Solid-phase microextraction of nitrogen-containing herbicides. *Journal of Chromatography A*, 704: 163-172, 1995.

Boyd-Boland, A., Magdic, S. and Pawliszyn, J.: Simultaneous determination of 60 pesticides in water using solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Analyst*, 121: 929-937, 1996.

Buchholz, K. and Pawliszyn, J.: Optimization of solid-phase microextraction conditions for determination of phenols. *Analytical Chemistry*, 66: 160-167, 1994.

Buletin 923A: Solid phase microextraction – theory and optimization of conditions, solid phase microextraction application guide and additional SPME literature. Supelco – Sigma – Aldrich, 4th edition, 1999.

Castro, J., Perez, R.A., Sanchez-Brunete, C. and Tadeo, J.L.: Analysis of pesticides volatilised from plants and soil by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. *Chromatographia*, 53: S-361-S-365, 2001.

Doong, R.A. and Liao, P.L.: Determination of organochlorine pesticides and their metabolites in soil samples using headspace solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 918: 177-188, 2001.

Đurović, R.: Optimizacija procesa mikroekstrakcije u čvrstoj fazi u određivanju ostataka pesticida u poljoprivrednim proizvodima. Magistarska teza, Univerzitet u Beogradu, Fakultet za fizičku hemiju, Beograd, 2006, str. 1-67.

Đurović, R.: Razvoj i primena metoda mikroekstrakcije u čvrstoj fazi za određivanje pesticida u različitim tipovima zemljišta. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Fakultet za fizičku hemiju, Beograd, 2010, str. 1-103.

Đurović, R., Marković, M. and Marković, D.: Headspace solid phase microextraction in the analysis of pesticide residues – kinetics and quantification prior to the attainment of partition equilibrium. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72: 879-887, 2007.

Đurović, R., Milinović, J., Cupać, S. and Marković, M.: Solid phase microextraction method for determination of 34 pesticides in soil samples. *Book of Abstracts Euroanalysis XIV*, Antwerp, Belgium, 2007a, p. 75.

Đurović, R., Milinović, J., Marković, M. and Marković, D.: Headspace solid phase microextraction in pesticide residues analysis: 2. Apple samples. *Pesticides and Phytomedicine*, 22(3): 173-176, 2007b.

Đurović, R., Gajić Umiljendić, J. and Đorđević, T.: Determination of atrazine, acetochlor, clomazone, pendimethalin and oxyfluorfen in soil by a solid phase microextraction method. *Pesticides and Phytomedicine*, 23(4): 265-271, 2008.

Đurović, R. and Đorđević, T.: Assessment of pesticide levels in plant products from agricultural area of Belgrade, Serbia. *Book of Abstracts 11th European Meeting on Environmental Chemistry (EMEC 11)*, Portorož, Slovenia, 2010a, p. 91.

Đurović, R., Đorđević, T., Šantrić, Lj., Gašić, S. and Ignjatović, Lj.: Headspace solid phase microextraction method for determination of triazine and organophosphorus pesticides in soil. *Journal of Environment Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 45: 626-632, 2010b.

Đurović, R., Gajić Umiljendić, J., Cupać, S. and Ignjatović, Lj.: Solid phase microextraction as an efficient method for characterization of the interaction of pesticides with different soil types. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21: 985-994, 2010c.

Eisert, R. and Levsen, K.: Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: A new method for the analysis of organics in water. *Journal of Chromatography A*, 733: 143-157, 1996.

Eisert, R., Levsen, K. and Wünsch, G.: Element-selective detection of pesticides by gas chromatography-atomic emission detection and solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 683: 175-183, 1994.

Fernandez-Alvarez, M., Llompart, M., Pablo Lamas, J., Lores, M., Garsia-Jares, C., Cela, R. and Dagnac, T.: Simultaneous determination of traces of pyrethroids, organochlorines and other main plant protection agents in agricultural soils by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1188: 154-163, 2008.

Herbert, P., Morais, S., Paíga, P., Alves, A. and Santos, L.: Development and validation of a novel method for the analysis of chlorinated pesticides in soils using microwave-assisted extraction–headspace solid phase microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 384: 810-816, 2006.

Hernandez, F., Beltran, J., Lopez, F.J. and Gaspar, J.V.: Use of solid-phase microextraction for the quantitative determination of herbicides in soil and water samples. *Analytical Chemistry*, 72: 2313-2322, 2000.

Jimenez, J., Bernal, J., Del Nozal, M., Martin, M. and Mayorga, A.: Solid-phase microextraction applied to the analysis of pesticide residues in honey using gas chromatography

- with electron-capture detection. *Journal of Chromatography A*, 829: 269-277, 1998.
- Lambropoulou, D.A. and Albanis, T.A.:** Determination of the fungicides vinclozolin and dicloran in soils using ultrasonic extraction coupled with solid-phase microextraction. *Analytica Chimica Acta*, 514: 125-130, 2004.
- Louch, D., Motlagh, S. and Pawliszyn, J.:** Chemical sensing using concentration gradient transients produced during diffusive transport of analytes. *Analytical Chemistry*, 64: 1552-1555, 1992.
- Magdic, S., Boyd-Boland, A., Jinno, K. and Pawliszyn, J.:** Analysis of organophosphorus insecticides from environmental samples using solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 736: 219-228, 1996.
- Maggioni, S., Benfenati, E., Colosio, C., Moretto, A., Roots, O., Tasiopoulou, S. and Visentin, S.:** Food contamination control in European new member states and associated candidate countries: data collected within the SAFEFOODNET project. *Journal of Environment Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 44: 407-414, 2009.
- Marković, M., Cupać, S., Đurović, R., Milinović, J. and Kljajić, P.:** Assessment of heavy metal and pesticide levels in soil and plant products from agricultural area of Belgrade, Serbia. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58: 341-351, 2010.
- Möder, M., Popp, P., Eisert, E. and Pawliszyn, J.:** Determination of polar pesticides in soil by solid phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography-electrospray/mass spectrometry. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 363: 680-685, 1999.
- Navalón, A., Prieto, A., Araujo, L. and Vilchez, J.L.:** Determination of tebufenpyrad and oxadiazon by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Chromatographia*, 54: 377-382, 2001.
- Navalón, A., Prieto, A., Araujo, L. and Vilchez, J.L.:** Determination of oxadiazon residues by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 946: 239-245, 2002.
- Navalón, A., Prieto, A., Araujo, L. and Vilchez, J.L.:** Determination of pyrimethanil and kresoxim-methyl in soils by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 379: 1100-1105, 2004.
- Ng, W.F., Teo, M.J. and Lakso, H.A.:** Determination of organophosphorus pesticides in soil by headspace solid-phase microextraction. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 363: 673-679, 1999.
- Pawliszyn, J.:** *Solid Phase Microextraction – Theory and Practice*. Wiley-VCH, New York, USA, 1997.
- Pawliszyn, J.:** US Patent 5 691 206 (1997a).
- Popp, P., Kalbitz, K. and Oppermann, G.:** Application of solid-phase microextraction and gas chromatography with electron-capture and mass spectrometric detection for the determination of hexachlorocyclohexanes in soil solutions. *Journal of Chromatography A*, 687: 133-140, 1994.
- Prosen, H. and Zupančič-Kralj, L.:** Use of solid-phase microextraction in analysis of pesticides in soil. *Acta Chimica Slovenica*, 45: 1-15, 1998.
- Raynie, D.E.:** Modern extraction techniques. *Analytical Chemistry*, 76: 4659-4664, 2004.
- Raynie, D.E.:** Modern extraction techniques. *Analytical Chemistry*, 78: 3997-4004, 2006.
- Sakamoto, M. and Tsutsumi, T.:** Applicability of headspace solid-phase microextraction to the determination of multi-class pesticides in waters. *Journal of Chromatography A*, 1028: 63-74, 2004.
- Simplicio, A. and Boas, L.:** Validation of a solid-phase microextraction method for the determination of organophosphorus pesticides in fruits and fruit juice. *Journal of Chromatography A*, 833: 35-42, 1999.
- Sunarso, J. and Ismadji, S.:** Decontamination of hazardous substances from solid matrices and liquids using supercritical fluids extraction: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 161: 1-20, 2009.
- Urruty, L., Montury, M., Braci, M., Fournier, J. and Dournel, J.M.:** Comparison of two recent solventless methods for the determination of procymidone residues in wines: SPME/GC/MS and ELISA tests. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 1519-1522, 1997.
- Vega Moreno, D., Sosa Ferrera, Z. and Santana Rodríguez, J.J.:** Sample extraction method combining micellar extraction – SPME and HPLC for the determination of organochlorine pesticides in agricultural soils. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54: 7747-7752, 2006.
- Vega Moreno, D., Sosa Ferrera, Z. and Santana Rodríguez, J.J.:** Microwave assisted micellar extraction coupled with solid phase microextraction for the determination of organochlorine pesticides in soil samples. *Analytica Chimica Acta*, 571: 51-57, 2006a.
- Vitali, M., Guidotti, M., Giovinazzo, R. and Cedrone, O.:** Determination of pesticide residues in wine by SPME and GC/MS for consumer risk assessment. *Food Additives and Contaminants*, 15: 280-287, 1998.
- Zhang, Z. and Pawliszyn, J.:** Headspace solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 65: 1843-1852, 1993.
- Zhao, R., Wang, X., Fu, S., Yuan, J., Jiang, T. and Xu, X.:** A novel headspace solid-phase microextraction method for the exact determination of organochlorine pesticides in environmental soil samples. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 384: 1584-1589, 2006.

Solid Phase Microextraction (SPME) in Determination of Pesticide Residues in Soil Samples

SUMMARY

The basic principles and application possibilities of the methods based on solid phase microextraction (SPME) in the analysis of pesticide residues in soil samples are presented in the paper. The most important experimental parameters which affect SPME efficacy in pesticide determination (type and thickness of microextraction fiber, duration of microextraction, temperature at which it is conducted, effect of addition of salts (the effect of efflorescence), temperature and time of desorption, the choice of optimal solvent for pesticide extraction from the soil and the optimal number of extraction steps), as well as general guidelines for their optimization are also shown. In the end, current applications of SPME methods in the analysis of pesticide residues in soil samples are presented.

Keywords: Solid phase microextraction (SPME); Pesticide residues; Soil