

# PREHĽAD ANALÝZY PYRETHROIDOV METÓDOU VYSOKOÚČINNEJ KVAPALINOVEJ CHROMATOGRAFIE

KRISTÍNA ROMÁNOVÁ a MILAN HUTTA

Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská dolina CH-2, 842 15 Bratislava, Slovenská republika  
e-mail: romanova@fns.uniba.sk, hutta@fns.uniba.sk

Došlo dňa 21.VIII.2001

Kľúčové slová: HPLC, pyrethroidy, pesticídy, achirálna separácia, chirálna separácia

## Obsah

1. Úvod
2. Analýza pyrethroidov
  - 2.1. Achirálna separácia na reverzných fázach
  - 2.2. Achirálna separácia na normálnych fázach
  - 2.3. Chirálna separácia s využitím polárnych mobilných fáz
  - 2.4. Chirálna separácia s využitím nepolárnych a stredne polárnych mobilných fáz
3. Záver

## 1. Úvod

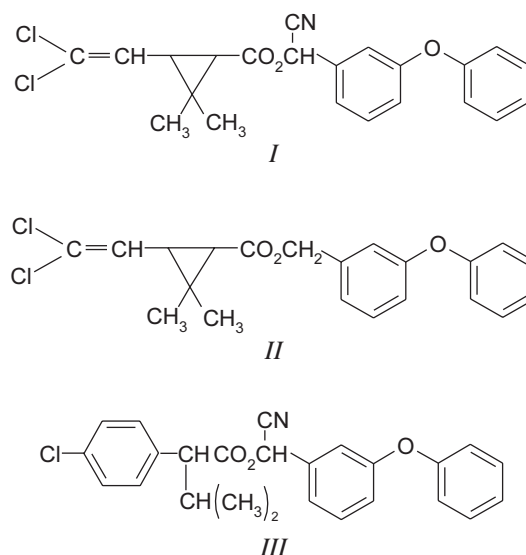
Človek sa snaží zlepšovať svoje životné podmienky, ale jeho úsilie zabezpečiť si dostatočné zásoby potravy sa stavajú do cesty rôzni škodcovia a choroby napádajúce poľnohospodárske plodiny, hospodárske zvieratá a aj človeka samotného<sup>1</sup>. Proti týmto vplyvom sa neustále bojuje používaním pesticídov. Posledné roky rastie spotreba rôznych pesticídov, ktoré vzbudzujú stále väčšie problémy a obavy zo znečistenia životného prostredia, ku ktorému dochádza ich aplikáciou. Pesticídy sa najčastejšie delia podľa použitia proti škodlivým činiteľom. Najrozšírenejšími skupinami sú *i*) insekticídy – pôsobiace na hmyz, *ii*) fungicídy – ničiace škodlivé parazitické huby a plesne, *iii*) herbicídy – používané proti burinám, ktoré sa vyskytujú v porastoch kultúrnych rastlín<sup>1,2</sup>. Ostatné skupiny sú menej významné.

Medzi najpoužívanejšie insekticídy patria pyrethroidy, s ktorými sa bežne dostávame do kontaktu vo forme rozprašovčov, posypov, elektroodpuzdovačov pri ničení hmyzu, alebo impregnačných roztokov pri penetrovaní stavebného materiálu, papiera či textílií. Po nečakanom objave pyrethroidov tieto rýchlo dosiahli komerčnú dôležitosť a v súčasnosti zaberajú viac ako 20 % svetového trhu s insekticídmi<sup>3</sup>. Pyrethroidy sú syntetické insekticídy odvodené od účinných látok vyskytujúcich sa v *Chrysanthemum cinerariaefolium* ako prírodné pyrethríny<sup>1</sup>. Pyrethríny sú biologické produkty s nižšou toxicitou pre cicavce ako syntetické pyrethroidy. Pyrethríny sú často

používané ako repelenty, ich nevýhodou je však nedostatočná perzistencia, a preto sa musia zmiešavať so synergickými látkami. Práve tento dôvod viedol k výrobe vysoko aktívnych a na svetle stabilných syntetických pyrethroidov. Pyrethroidy sa zaraďujú do triedy neuroaktívnych insekticídov<sup>4,5</sup> s krátkou životnosťou a s nízkou toxicitou pre cicavce<sup>6,7</sup>. Napriek tomu sa objavili informácie o ich nepriaznivom vplyve na zdravie človeka, pričom niektoré syntetické pyrethroidy sú už podozrivé z karcinogenity<sup>8</sup>. O toxicite pyrethroidných insekticídov pre cicavce bolo popísaných niekoľko prác<sup>9–11</sup>. O syndrómoch otravy, prejavoch a terapii pojednáva práca Raya<sup>12</sup>.

Z hľadiska chemickej štruktúry sa syntetické pyrethroidy rozdeľujú do troch skupín (obr. 1): *a*) s  $\alpha$ -CN skupinou (napr. cypermethrin, cyfluthrin, deltamethrin), *b*) bez skupiny CN (napr. permethrin, allethrin), *c*) bez cyklopropánového kruhu (napr. fenvalerat,  $\tau$ -fluvalinat)<sup>5</sup>. Pyrethroidy sú syntetizované, testované, označované a používané ako jednoduché, veľmi aktívne izoméry, alebo ako izoména zmes obsahujúca dva alebo viac rôznych stereoizomérov závislých od počtu chirálnych centier v molekulách a spôsobu syntézy<sup>13</sup>. Použitie pyrethroidov je nevyhnutné pre zabezpečenie kvality životnej úrovne, a preto sa v dnešnej dobe vynakladá úsilie na redukcii rizík spojených s ich aplikáciou v životnom prostredí.

Jednou z možností, ako znížiť zataženie životného prostredia, je objav, vývoj a zavedenie na trh takých biologicky účinných látok, ktoré pôsobia selektívne na určité biochemické procesy v cieľových organizmoch. Hlavným prostriedkom na dosiahnutie tohoto cieľa sa javí práve chiralita. So stereoizomérmí, vrátane optických izomérov, sa stretávame aj u pyrethroidov. Väčšina vyrábaných pyrethroidov je produk-



Obr. 1. Príklady štruktúrnych vzorcov pyrethroidov z troch základných skupín; cypermethrin (I), permethrin (II), fenvalerat (III)

vaných vo forme racemických zmesí a zmesí s rôznou enantiomernou čistotou, a to napriek skutočnosti, že len jeden enantiomér je biologicky aktívny, kým druhý sa môže prejavovať ako nečistota. Nahrádzanie racemických zmesí čistými enantiomermi umožňuje významnú redukciu množstva pyrethroidov aplikovaných do životného prostredia. Zníženie koncentrácie a počtu balastných látok zaťažujúcich životné prostredie vedie aj k zníženiu pravdepodobnosti nepriaznivého účinku týchto látok a ich degradačných produktov na zdravie človeka. Pri porovnaní biologických aktivít stereoizomérov syntetických pyrethroidov obsahujúcich zvyšok kyseliny chryzantémovej sa zistilo, že deriváty kyseliny chryzantémovej, ktoré obsahujú (1*R*)-(+)-kyslú zložku, majú vyššiu insekticídnu aktivitu ako tie, ktoré majú (1*S*)-(–)-kyslý ester<sup>14</sup>. (1*R*)-izomér kyseliny chryzantémovej je časťou pyrethrinu, a preto nie je prekvapujúce, že komerčné produkty sú odvodené od štruktúry (1*R*)-chryzantémovej kyseliny. Napriek tomu, že (1*R*)-izoméru pridelujú vyššiu insekticídnu aktivitu, sú rozdiely medzi (1*R*)- a (1*S*)- (a *trans*- a *cis*-) izomermi v ich toxicite pre cicavce malé<sup>15</sup>.

Pre vývoj a testovanie nových preparátov vo vyššie spomínaných oblastiach je potrebné mať k dispozícii nástroje pre analýzu chirálnych látok. V súčasnosti je rozvíjaných viac metód pre analýzu chirálnych látok a vysokoúčinná kvapalinová chromatografia (HPLC) je jednou z efektívne využívaných metód. HPLC je používaná samostatne, ale aj v multidimenzionálnych separáciách. Z uvedeného vyplýva, že problematika analýzy pyrethroidných látok v životnom prostredí je aktuálnou témou pre vedecký výskum.

## 2. Analýza pyrethroidov

Pre stanovenie pyrethroidov a pyrethrinov boli použité rôzne analytické metódy uvedené aj v práci Dombeka<sup>16</sup>. Metódy pre analýzu pyrethroidov v rôznych matriciach zahŕňajú extrakciu polárnym rozpúšťadlom alebo extrakciu tuhým fázou, vyčistenie adsorpčnou alebo gélovou permeačnou chromatografiou. Stanovenie sa uskutočňuje plynovou chromatografiou (GC) s detektorom elektrónového záchytu (ECD) (cit. 17–25), s plameňom ionizačným detektorom (FID) (cit. 25–28), alebo hmotnostným spektrometrickým detektorom (MS) (cit. 29,30), alebo HPLC so spektrofotometrickou detekciou v ultrafialovej oblasti spektra (UV) (cit. 31), infračervenou spektroskopiou (IČ) (cit. 32), rádiometrickým detektorom<sup>33</sup>, rádiometrickým detektorom s kvapalným scintilátorom<sup>34</sup> alebo polarimetrom<sup>35</sup>. Tieto dve metódy (GC a HPLC) sú najpoužívanejšie, ale okrem nich sa používajú aj iné aplikácie, ako je superkritická fluidná extrakcia<sup>36–38</sup>, micelárna elektrokinetická chromatografia (MECC) (cit. 39), polarografia<sup>40</sup>, voltametria<sup>41,42</sup>, spektrofotometria<sup>43</sup>, kapilárna elektroforéza (CE) s UV detektorom a fluorescenčným detektorom laserom indukovanej fluorescencie (LIF) (cit. 44,45), izotachoforéza (ITP) (cit. 46,47) a imunoassay<sup>48,49</sup> metódy. Di Muccio a spol.<sup>50</sup> študovali metódu využívajúcu delenie na základe dispergovania pevnej matrice (sorbentu) do tekutých vzoriek (SMDP) a následným oddelením tohto sorbentu filtráciou v kombinácii s gélovou chromatografiou na minikolóne pre analýzu pyrethroidných rezíduí v mastných matriciach (oleje a pod.). Výťažnosť fluvalinátu a permethrinu nemohla byť vypočítaná kvôli interferencii látok zo sójového oleja, kým  $\lambda$ -cyhalothrin, esfenvalerat a tra-

lomethrin dávajú nízke výťažnosti. Metódou HPLC boli stanovené aj pyrethríny v extrakte pyrethra<sup>51</sup> a v biologickom materiáli, ktorým bola ľudská plazma<sup>52</sup>.

Podľa spôsobu separácie môžeme metódy HPLC rozdeliť do týchto skupín:

- achirálna separácia na reverzných fázach (RP),
- achirálna separácia na normálnych fázach (NP),
- chirálne separácie s využitím polárných mobilných fáz,
- chirálne separácie s využitím nepolárných a stredne polárných mobilných fáz.

Stručné charakteristiky týchto metód sú uvedené v tabuľke I a II.

### 2.1. Achirálna separácia na reverzných fázach

Táto metóda umožňuje stanoviť pyrethroidy a ich diastereoizoméry v rôznych matriciach, resp. ich čistotu v technologických vzorkách.

Niektoré syntetické pyrethroidy<sup>53</sup> a synergikum piperonyl butoxid, zlúčeniny ktoré sa bežne používajú ako ochrana pre skladované obilie, boli stanovené ako rezidua v ryži RP HPLC s UV detekciou pri 225 nm. Extrakcia pesticídov a interferujúceho materiálu z obilia bola robená tromi rôznymi extrahujúcimi rozpúšťadlami: acetónom, metanolom a hexánom. Acetón bol z nich najvhodnejší, pretože poskytuje kvantitatívnu extrakciu (48-hodinová extrakcia) a neposkytuje vysokú úroveň balastného materiálu. Koncentrácia pyrethroidov v extrakte dosahuje úroveň 5  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , čo umožňuje ich stanovenie priamym dávkovaním. Pri nižších koncentráciách je potrebné dodatočné čistenie extraktu a zakoncentrovanie analytov. Dokonalé vyčistenie acetónových extraktov bolo uskutočnené na predkolónach plnených oxidom hliníovým, resp. kremičitanom horečnatým a desaťnásobné zakoncentrovanie bolo dosiahnuté sorpciou pesticídov na predkolóne C18 alebo zahustením extraktu prostredníctvom odparenia rozpúšťadla.

Na rozlíšenie prekrývajúcich sa chromatografických pík boli využité rôzne chemometrické metódy<sup>54,55</sup> ich dekonvolúciou a aplikované na stanovenie pyrethroidov – zmesi cypermethrinu, fenvalerate a *cis*-, *trans*-permethrinu HPLC.

Rezidua<sup>56</sup> fluvalinátu v mede boli analyzované po superkritickéj fluidnej extrakcii (SFE) oxidom uhličitým s následnou HPLC analýzou na kolóne C18. Táto metóda je podľa autorov jednoduchšia ako extrakcia organickými rozpúšťadlami, čistenie extraktov tenkovrstvovou chromatografiou a analýza plynovou chromatografiou.

Kutter a Class<sup>57</sup> pozorovali na kolóne C18 RP poradie elúcie izomérov *cis*- a *trans*-allethrinu v mobilnej fáze metanol:voda (4:1). V prípade cypermethrinu boli detegované len tri píky miesto štyroch pík diastereoizomérov.

Brouwer a spol.<sup>58</sup> stanovovali pyrethroidné insekticídy v povrchovej vode kvapalinovou chromatografiou so spektrofotometrickou detekciou detektorom s diódovým poľom (DAD) použitím priamej úpravy vzorky technikou prepájania kolón. Procedúra zahŕňa automatické on-line zakoncentrovanie na predkolónkach obsahujúcich oktadecylsilikagél. Adsorpcia na vnútorné steny a povrchy bola potlačená prídavkom neutrálneho surfaktantu Brij-35 do vodnej vzorky. Pri spracovaní 100 ml vzorky sú detekčné limity na úrovni 0,4  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  pri 235 nm.

Cyfluthrin<sup>59</sup> bol stanovený RP LC v kvapalných a pevných

Tabuľka I  
Achirálna HPLC analýza pyrethroidov

Stacionárna fáza	Mobilná fáza	Separované pyrethroidy	Detekcia a detekčný limit	Matrica a úprava vzorky	Lit.
<i>Achirálna separácia na reverzných fázach</i>					
Waters Novapak C18 (150×3,9 mm)	ACN-H <sub>2</sub> O (75:25)	bioresmethrin, deltamethrin, fenvalerat, permethrin, phenothrin	UV 225 nm 0,05 µg.ml <sup>-1</sup>	ryža, extrakcia	53
Hypersil C18 (150×4,6 mm, 5 µm)	ACN-H <sub>2</sub> O (85:15)	cypermethrin, fenvalerat, permethrin	UV 210 nm	podzemná voda, pôda, extrakcia	54
Hypersil C18 (150×4,6 mm, 5 µm)	ACN-H <sub>2</sub> O (95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25)	cypermethrin, fenvalerat, permethrin	DAD	–	55
Novapak C18 (150×4,6 mm)	ACN-H <sub>2</sub> O s 14 ml.l <sup>-1</sup> 0,01M-AcOH (80:20)	fluvalinat	UV 254 nm 0,06 mg.l <sup>-1</sup>	med, SFE	56
LiChrosorb RP18 (120×4 mm, 5 µm)	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O (4:1)	allethrin	UV 220 nm	–	57
Supelcosil LC-PAH (250×4,6 mm, 5 µg)	gradient A = H <sub>2</sub> O, B = ACN 35 % A-65 % B po čas 12,5 min., lineárna zmena na 20 % A-80 % B (20 min)	allethrin, cypermethrin, tetramethrin, permethrin, fenprothrin, fenvalerat, bifenthrin	UV 235 nm 0,4 µg.l <sup>-1</sup>	povrchová voda	58
Nucleosil C18 ((1250+40)×4 mm, 5 µm)	ACN-H <sub>2</sub> O (80:20)	deltamethrin	UV 275 nm 0,2 mg.l <sup>-1</sup>	voda z bazény, pre očistu hov. dobytka, filtrácia	62
Kyanopropyl modifikovaný silikagél (250×4,6 mm, 5 µm)	ACN-H <sub>2</sub> O (55:45)	cyfluthrin	UV 230 nm	kvapalné a pevné pesticídne formy	59
Nucleosil 120-5 C18 (250×4,6 mm)	ACN-H <sub>2</sub> O (80:20)	flumethrin, deltamethrin, cypermethrin, cyhalothrin	UV 266 nm 0,001 mg.kg <sup>-1</sup>	mlieko a krv dojných kráv, extrakcia	60,61
µBondpak C18 (300×3,9 mm, 10 µm)	ACN-H <sub>2</sub> O (75:25)	bifenthrin, cypermethrin, fenprothrin, fenvalerat, flucytrin, methotrin, permethrin, tetramethrin py-115	UV 206 nm 0,05 mg.kg <sup>-1</sup> pre py-115 0,1 mg.kg <sup>-1</sup>	plodiny ovocia a zeleniny, extrakcia	63
Separon SIX C18 (150×3,2 mm, 5 µm)	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O (80:20)	kadethrin, cypermethrin, permethrin	UV 272 nm 7,8–13,5 µg.ml <sup>-1</sup> (20 µl)	ovzdušie, extrakcia z PUF	64

Tabuľka I – pokračovanie

Stacionárna fáza	Mobilná fáza	Separované pyrethroidy	Detekcia a detekčný limit	Matrica a úprava vzorky	Lit.
Purospher RP-18e (125×4 mm, 5 µm)	rôzny gradient CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O	kadethrin, cypermethrin, permethrin	UV 270 nm	aerosólové spraye	
Separon SGX C18 (150×3 mm, 5 mm)	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O (75:25)	kadethrin, cypermethrin, permethrin	UV 225 a 245 nm		65
Separon SIX CN (150×3 mm, 5 µm)	CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O (60:40)	kadethrin, cypermethrin, permethrin	UV 225 nm		65
Chromolith RP-18e Performance (100×4,6 mm)	gradient CH <sub>3</sub> OH-H <sub>2</sub> O	kadethrin, cypermethrin, permethrin	UV 220 nm		65
<i>Achirálna separácia na normálnych fázach</i>					
Partisil (250×4,6 mm; 10 µm)	hexán-chloroform-IPA (200:0,2:0,1) hexán-THF-dietyléter (200:0,5:6) hexán-chloroform-dietylér (200:1:6) hexán-chloroform-IPA (200:1:6)	cypermethrin cypermethrin cypermethrin, permethrin cypermethrin	UV 281 nm	–	67
LiChrospher Si 100 (120×4 mm, 5 µm)	3% THF-hexán	allethrin, cypermethrin	UV 220 nm	–	57
Nucleosil 5 NO <sub>2</sub> (120×4 mm, 5 µm)	0,5% THF-hexán	allethrin, cypermethrin	UV 220 nm	–	57
LiChrospher Si 60 (250×4 mm, 10 µm)	hexán-benzén (50:50)	deltamethrin, cypermethrin, permethrin	UV 280 nm, polarimeter	–	66
Spherisorb S5W (250×4,6 mm, 5 µm)	0,7% etylacetát-izooktán	α-cypermethrin, fenvalerat, deltamethrin, fenpropathrin, esfenvalerat, cypermethrin, permethrin	UV 275 nm	pesticídne formy, extrakcia	68
Partisil 10 Si (250×4,6 mm, 10 µm)	7% IPA-hexán	alphamethrin, cypermethrin, phenothrin, deltamethrin, fenpropathrin, tetramethrin, fenvalerat, permethrin	UV 235 nm 0,4–1,5 ppm	pitná voda	69
Separon SIX-CN (150×3,3 mm, 5 µm)	7% IPA-heptán	alphamethrin, cypermethrin, phenothrin, deltamethrin, fenpropathrin, tetramethrin, fenvalerat, permethrin	UV 235 nm 0,75–5 ppm	pitná voda	69
Silasorb 600 (5 µm)	0,4% THF-heptán hexán-acetón (30:1)	cypermethrin, deltamethrin, λ-cyhalothrin	UV 240 nm	–	70

Tabuľka II  
Chirálna HPLC analýza pyrethroidov

Stacionárna fáza	Mobilná fáza	Separované pyrethroidy	Detekcia a detekčný limit	Matrica a úprava vzorky	Lit.
	<i>Chirálna separácie s využitím polárnych mobilných fáz</i>				
ChiraDex (250×4 mm, 5 µm)	150 mM trietylamín s H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> v H <sub>2</sub> O (pH 3,5):CH <sub>3</sub> OH (45:55) 150 mM trietylamín s H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> v H <sub>2</sub> O (pH 3,5):ACN (60:40)	α-cypermethrin cypermethrin permethrin	UV 210 nm	–	39 71 39
Cyclobond I 2000 (250×4,6 mm, 5 µm)	150 mM trietylamín s H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> v H <sub>2</sub> O (pH 3,5):CH <sub>3</sub> OH (50:50)	α-cypermethrin, cypermethrin	UV 210 nm	–	71
(+)-(5R,8S,0R)-1-(3-Aminopropyl)-terguride (150×4,6 mm)	20 mM octanový tlmivý roztok (pH 4)-ACN (6:4) 20 mM octanový tlmivý roztok (pH 4)-ACN (4:6) 20 mM octanový tlmivý roztok (pH 3,7)-ACN (7:3)	resmethrin, permethrin, cyfluthrin, bifenthrin, phenothrin deltamethrin cyfluthrin	UV 230 nm UV 230 nm UV 230 nm	– – póda, extrakcia	72 72 72
Cyclobond I β-Cyklodextrín (250×4,6 mm, 5 mm)	ACN-H <sub>2</sub> O (25:75) ACN-H <sub>2</sub> O (22:78)	cypermethrin allethrin	UV 220 nm	–	57
	<i>Chirálna separácie s využitím nepolárnych a stredne polárnych mobilných fáz</i>				
Pirklova iónová kolóna I-A (250×4,6 mm)	0,15% IPA-hexán 0,05% IPA-hexán	dl-allethrin, d-allethrin, α-cypermethrin, cypermethrin, fenprothrin, fenvalerat, tetramethrin permethrin, d-phenothrin, resmethrin	UV 230 nm	–	73
Pirklova kovalentná kolóna (250×4,6 mm)	0,15% IPA-hexán 0,05% IPA-hexán	λ-cyhalothrin, cyhalothrin, α-cypermethrin, fenvalerat cyfluthrin, flucythrinate, flumethrin	UV 230 nm	–	73
I <sup>®</sup> (250×4 mm)	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:30:0,15)	terallethrin	UV 230 nm	–	74

Tabuľka II – pokračovanie

Stacionárna fáza	Mobilná fáza	Separované pyrethroidy	Detekcia a detekčný limit	Matrica a úprava vzorky	Lit.
II <sup>b</sup>	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:30:0,15) hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:30:0,05) hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:10:0,05)	allethrin, bioallethrin fenvalerat cypermethrin, fenpropathrin			74
III <sup>c</sup>	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:30:0,15) hexán-1,2-dichlóretán (500:1) resmethrin	fenvalerat, tetramethrin, permethrin, phenothrin,			74
OA-2000	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:30:0,15)	fenvalerat			74
OA-4700	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:10:0,05)	cypermethrin			74
II+OA-4700	hexán-1,2-dichlóretán-etanol (500:10:0,05)	cypermethrin			74
Daiçel Chiralcel OD (250x4,6 mm, 10 µm)	hexán-IPA (250:5)	cypermethrin, $\alpha$ -cypermethrin, permethrin	UV 280 nm	–	67
Chiraspher (250x4 mm, 5 µm)	hexán-etanol (99,5:0,5)	bifenthrin, fenpropathrin	UV 230 nm, polarimeter	–	76
Whelk-O (250x4,6 mm)	hexán 2% IPA-hexán 0,2% IPA-hexán	resmethrin tetramethrin permethrin	UV 254 nm	–	75
Chiral-2 (250x4 mm, 5 µm)	0,05% trifluoroctová kyselina a 0,05% IPA-hexán	cypermethrin	UV 220 nm	–	57
Whelk-01 (250x4mm, 5 µm)	1% IPA-heptán	cypermethrin, permethrin	UV 240 nm –	64	

<sup>a</sup> Typ I odvodený od derivátu (S)-1-( $\alpha$ -nafty)etylamínu s (S)-valínom chemicky viazaný na 3-aminopropyl silikagél, <sup>b</sup> typ II odvodený od derivátu (S)-1-( $\alpha$ -nafty)etylamínu s (S)-*terc.*leucínom chemicky viazaný na 3-aminopropyl silikagél, <sup>c</sup> typ III (R)-A-(3,5-dinitrobenzoyl)-1-naftyglycín iónovo viazaný na 3-aminopropyl silikagél

formách. Plochy píkov pre testovaciu vzorku a štandard cyfluthrinu boli porovnané použitím dekanofenónu ako vnútorného štandardu.

Na stanovenie rezíduí syntetických pyrethroidov v mlieku a krvi dojnych kráv bola vyvinutá citlivá metóda<sup>60,61</sup>. Extrakcia bola uskutočnená acetonitrilom, rozdeľovanie *n*-hexánom a silikagélom bola vyčistená *n*-hexánom a dietyléterom. Výťažnosť pyrethroidov bola 78–91 % s minimálne detegovateľnou koncentráciou 0,001 mg.kg<sup>-1</sup>.

Pavan a spol. v práci<sup>62</sup> navrhli postup, kde vzorka dezinfekčného roztoku z bazéna pre očistu hovädzieho dobytku bola odstreďovaním a filtráciou rozdelená na kvapalnú a pevnú podiel. Tieto podiely vzorky boli analyzované HPLC so spektrofotometrickým detektorom pri 275 nm, pričom detekčný limit bol 0,2 mg.l<sup>-1</sup>. Autori deklarujú celkovú výťažnosť 81,2–84,95 %, pričom 20 % deltamethrinu bolo distribuované do kvapalného podielu vzorky a v pevnom podiely vzorky sa nachádzalo zvyšných 61,2–64,95 %.

Rezíduá<sup>63</sup> deviatich pyrethroidov z ovocia a zeleniny boli extrahované metanolom, reextrahované toluénom a vyčistené na kolóne obsahujúcej zmes Florisilu a aktívneho uhlia. Výťažnosti celého postupu sa pohybovali pre jednotlivé pyrethroidy v rozmedzí 62,7–129,2 %.

V práci<sup>64</sup> bolo študované retenčné správanie sa zvolenej skupiny pyrethroidov RP HPLC. V mobilnej fáze metanol/voda (80:20) na oktadecylsilikagélovej kolóne sa dosiahla úplná skupinová separácia kadethrinu, cypermethrinu, ako aj čiastočná separácia diastereoizomérov cypermethrinu a úplná separácia diastereoizomérov permethrinu. Modelové zmesi a aplikačné formy (komerčné prípravky) pyrethroidov sa analyzovali v ovzduší, využitím sorpcie pyrethroidov na polyuretánovú penu (PUF) umiestnenú vo vzorkovači ovzdušia.

Problematika zlepšenia separácie diastereoizomérov pyrethroidov metódou RP HPLC bola riešená<sup>65</sup> na rôznych štyroch typoch kolón s a bez prídavku kovových kationov Zn<sup>2+</sup> a Ag<sup>+</sup>. Výrazné rozlíšenie diastereoizomérov bolo dosiahnuté na dvoch oktadecylových kolónach zapojených za sebou s mobilnou fázou metanol/voda s 21,2 mmol.l<sup>-1</sup> prídavkom kationov Ag<sup>+</sup>. Bol použitý aj nový druh chromatografickej kolóny (Chromolith RP-18e Performance). Na tejto kolóne rozlíšenie jednotlivých pyrethroidov ako aj ich diastereoizomérov dosahovalo hodnoty väčšie ako 1,3 v čase do desať minút. Jediným nedostatkom bola koelúcia dvoch diastereoizomérov cypermethrinu.

## 2.2. Achirálna separácia na normálnych fázach

Normálnefázový mód umožňuje separáciu diastereoizomérov alebo pyrethroidov, poprípade ich oddelenie od interferentov. Výhodou tohto módu je, že ide o adsorpčnú chromatografiu, kde tvarová selektivita je všeobecne lepšia ako v rozdeľovacej chromatografii.

Diaz a spol.<sup>66</sup> delili stereoizoméry deltamethrinu, cypermethrinu a permethrinu na kolóne Lichrospher Si 60 v mobilnej fáze hexán–benzén použitím dvoch detektorov: UV spektrofotometra a polarimetra s diódovým laserom. Využitím stereospecifického polarimetrického detektora boli schopní analyzovať jednotlivé enantioméry rozseparovaných diastereoizomérov pyrethroidov.

Relatívne rýchla (<30 minút), robustná a nie príliš drahá

metóda bola vyvinutá pre separáciu diastereoizomérov cypermethrinu<sup>67</sup>. Silikagélom kolóna Partisil a mobilná fáza hexán–chloroform–dietyléter (200:1:6) boli použité pre analýzu a prípravu každého diastereoizoméru zberom frakcií. Táto metóda sa použila aj pri separácii geometrických izomérov permethrinu za elučný čas kratší ako desať minút. Pre cypermethrin dávajú štyri rôzne druhy mobilných fáz rôznu selektivitu separácie izomérov, ale nie je dostatočná pre zmenu elučného poradia. Tieto metódy poskytujú užitočné alternatívy, ak sa v extraktoch biologických materiálov nachádzajú koeluujujúce píky.

NP HPLC (cit.<sup>57</sup>) sa separoval cypermethrin a cyfluthrin (4-fluorobenzylový analóg cypermethrinu) na silikagéli a na silikagéli modifikovanom NO<sub>2</sub> na štyri páry enantiomérov. Elučné poradie allethrinu na silikagéli (3% tetrahydrofurán (THF) v hexáne) je také, že *cis*- eluuje pred *trans*-allethrinom a na silikagéli modifikovanom NO<sub>2</sub> (0,5% THF v hexáne) *cis*-allethrin izoméry eluuju pred *trans*-izomermi – predstavujúce bioallethrin. Sú separované v elučnom poradí [1*R*, *trans*,  $\alpha$ S]-allethrin pred [1*R*, *trans*,  $\alpha$ R]-allethrinom.

Metóda uvedená v práci Koppena<sup>68</sup> bola využitá pre sedem pyrethroidov prítomných ako jednoduché pyrethroidy aktívnych ingrediencií v jednej z troch foriem: emulzia, suspenzia alebo vo vode dispergovateľné granule. Predbežné experimenty poukázali na separácie  $\lambda$ -cyhalothrinu a štyroch diastereoizomérov cyfluthrinu pod 20 minút.

Rieger<sup>69</sup> vo svojej práci popísal separáciu a stanovenie niektorých pyrethroidov vo vode na silikagélovej kolóne a na kolóne s viazaným nitrilom použitím IPA v hexáne alebo heptáne ako mobilných fáz. Pre úplnú separáciu štyroch enantiomérnych párov cypermethrinu na kolóne s polárnou –CN viazanou fázou bola ako optimum vybraná mobilná fáza 0,4% THF v heptáne.

Zmes pyrethroidov sa v práci Davidyuka a spol.<sup>70</sup> mobilnou fázou *n*-hexán–acetón (40:1 a 6:1) na kolóne Silasorb 600 neseparovala. Tvar chromatografických píkov detegovaných pri 240 nm bol pri mobilných fázach *n*-hexán–acetón (10:1 a 20:1) skreslený, čo komplikuje kvantitatívne vyhodnotenie. Selektívna separácia bola dosiahnutá pri mobilnej fáze (30:1). Bolo zistené, že použitie mobilnej fázy je najlepšie pri teplote pod 20 °C. Pokles teploty pod 20 °C mal za následok zvýšenie retencie syntetických pyrethroidov.

## 2.3. Chirálna separácia s využitím polárnych mobilných fáz

Chirálna separácia sa využívajú na delenie racemických alebo enantiomérov obohatených zmesí na ich enantioméry.

Ševčík a spol.<sup>39</sup> separovali pyrethroidy s využitím cyklo-dextrínov ako chirálnych selektorov metódou HPLC a MECC. V porovnaní s HPLC, MECC umožňuje enantioseparáciu fenprothrinu a lepšiu separáciu cypermethrinu. Na druhej strane HPLC ponúka lepšie možnosti pri analýze permethrinu. Pri nižšej teplote sa lepšie separuje prvý enantiomérny pár permethrinu. Pri vyššej teplote táto separácia nie je vyhovujúca z pohľadu separácie všetkých enantiomérov, ale dáva dobré možnosti pre separáciu druhého enantiomérového páru.

V práci Lemra a spol.<sup>71</sup> bol študovaný vplyv rôznych experimentálnych parametrov (zloženie mobilnej fázy, prietok, teplota a dávkované množstvo) na chirálnu separáciu použitím dvoch stacionárnych fáz  $\beta$ -cyklodextrínov viazaných na silikagéli. Skonštatovalo sa, že každý parameter pri-

spieva k finálnemu výsledku. Pyrethroidy sú neutrálne látky, a toto je dôvod, prečo vplyv pH nie je očakávaný. Napriek tomu u  $\alpha$ -cypermethrinu zvýšenie pH viedlo k zníženiu relatívnej retencie pre jeho enantioméry z 1,53 na 1,43 na kolóne ChiraDex. Kolóna Cyclobond I umožňuje delenie oboch enantiomérov, ale stanovenie jedného v nadbytku toho druhého nie je možné. Použitím kolóny Cyclobond I bolo rozlíšených viacero píkov v porovnaní s kolónou plnenou fázou ChiraDex.

Priame<sup>72</sup> enantioseparácie kyseliny chryzantémovej [2,2-dimetyl-3-(2-metylpropenyl)-cyklopropánkarboxylová kyselina] a jej halogén-substituovaných analógov boli systematicky študované HPLC použitím chirálnej stacionárnej fázy s naviazaným alkaloidom – derivátom terguridu v kombinácii s DAD a chiroptickým detektorom. Izoméry s konfiguráciou (1*R*) vždy eluujú pred izomémi s konfiguráciou (1*S*). Selektivita separácie *cis*- a *trans*-izomérov bola silne ovplyvnená pH mobilnej fázy, kým enantioselektivita zostala bez zmeny. Táto metóda bola použitá pre monitorovanie hydrolytických degradačných produktov cyfluthrinu v pôde pri laboratórnych podmienkach.

Všetky štyri<sup>57</sup> *trans*-izoméry allethrinu boli separované na chirálnej kolóne Cyclobond I. *Cis*-izoméry koeluovali v jednom píku. Na cykloextrínovej chirálnej kolóne Cyclobond I bolo pozorovaných päť pík, ak boli dávkované roztoky cypermethrinu v metanole alebo acetonitrile.

#### 2.4. Chirálna separácia s využitím nepolárnych a stredne polárnych mobilných fáz

Normálnefázový mód sa pre chirálne separácie používa častejšie pre lepšiu enantioselektivitu pre jednotlivé enantioméry. Je výhodný pre prípravu čistých enantiomérov.

Použitím Pirklových kolón iónového typu 1-A ((*R*)-*N*-(3,5-dinitrobenzoyl)fenylglycínová chirálna stacionárna fáza viazaná iónovou väzbou na aminopropylsilikagél) a novšieho kovalentne viazaného typu ((*R*)-*N*-(3,5-dinitrobenzoyl)fenylglycínová chirálna stacionárna fáza viazaná kovalentnou väzbou na aminopropylsilikagél ako amid) bolo skúmaných päťnásť syntetických pyrethroidov. Úplné rozdelenie pík enantiomérov bolo dosiahnuté takmer vo všetkých prípadoch<sup>73</sup>.

Vyvinuté boli tiež chirálne stacionárne fázy (CSP) klasifikované ako deriváty močoviny (typ I a II) (cit.<sup>74</sup>). Typ I je odvodený od derivátu (*S*)-1-( $\alpha$ -naftyl)etylaminu s (*S*)-valínom a typ II od derivátov (*S*)-1-( $\alpha$ -naftyl)etylaminu s (*S*)-*terc*.leucínom. V oboch typoch stacionárnych fáz sú funkčné skupiny chemicky viazané na 3-aminopropyl silikagél. Tieto typy CSP sú účinné pre separáciu racemických zlúčenín. Taktiež bol vyvinutý modifikovaný typ Pirklovej kolóny: (*R*)-*N*-(3,5-dinitrobenzoyl)-1-naftylglycín iónovo viazaný na 3-aminopropyl silikagél (III). Chirálna stacionárna fáza I–III sú účinné pre enantioméru separáciu insekticídov. Zlepšenie rozlíšenia bolo dosiahnuté pre rôzne substituované pyrethroidy obsahujúce jedno až tri chirálne centrá.

Enantioméry<sup>75</sup> niektorých agrochemikálií obsahujúcich  $\pi$ -aromatický systém s akceptorom vodíkovej väzby blízko stereogénneho centra boli separované na chirálnej stacionárnej fáze Whelk-O. Na tejto fáze boli delené *trans*-diastereoizoméry resmethrinu a tetramethrinu. Permethrin s dvoma chirálnymi centrami bol rozdelený na štyri enantioméry.

Sánchez<sup>76</sup> separoval enantioméry bifenthrinu a fenpropa-

thrinu na kolóne Chiraspher a analyty detegoval UV fotometrickým detektorom a polarimetrom s diódovým laserom. Rozlíšenie enantiomérov týchto dvoch pyrethroidov sa pohybovalo v rozmedzí 0,66–1,04 a najlepší polarimetrický signál bol získaný pri zmesi hexán–etanol (95,5:0,5).

Tri diastereoizoméry<sup>67</sup> cypermethrinu boli separované na základnú líniu na ich enantioméne páry s časom analýzy pod 50 minút. Jeden diastereoizomér nebol rozlíšený na enantioméry. Izoméry boli úplne separované pri mobilnej fáze hexán–2-propanol (IPA) (250:1), ale s podstatne dlhším elučným časom (cca 70 min). Táto metóda je vhodná pre prípravu enantiomérov cypermethrinu frakčným zberom. Použitá chirálna kolóna bola nevhodná pre analýzu štyroch enantiomérov permethrinu, ale výborná pre separáciu  $\alpha$ -cypermethrinu.

Diastereoizoména<sup>56</sup> a enantioména selektivita bola pozorovaná pre cypermethrin na chirálnej stacionárnej fáze Pirklovho typu, avšak pre allethrin separácia nebola pozorovaná. Dôvody sú veľmi silné interakcie so stacionárnou fázou, majúce za následok dlhé retenčné časy a ireverzibilnú adsorpciu.

Boli optimalizované podmienky<sup>63</sup> separácie cypermethrinu a permethrinu na chirálnej kolóne Whelk-01 (*R,R*) v 1% IPA v *n*-heptáne. Z výsledkov vyplynulo, že *trans*-diastereoizomér permethrinu bol rozseparovaný, kým *cis*- nebol. Cypermethrin bol rozseparovaný len na diastereoizoméry bez enantioseparácie.

### 3. Záver

Rozsiahle aplikácie insekticídnych pyrethroidov a ich štruktúrne črty si pri vývoji validovaných metód HPLC pre ich analýzu vyžadujú riešiť viacero okruhov problémov. Separácia diastereoizomérov pyrethroidov sa uskutočňuje metódami achirálnych HPLC v NP a RP systémoch, pričom za NP podmienok sú diastereoizoméry pyrethroidov ľahšie separovateľné<sup>77,78</sup>. Separácia enantiomérov sa robí v systémoch chirálnej chromatografie využívajúcich rôznorodé chirálne stacionárne fázy, pričom väčšina sa uskutočňuje v nepolárnych a stredne polárnych mobilných fázach.

Úspešnosť NP systémov vyplýva priamo zo štruktúrnych črt pyrethroidov, kde NP systémy HPLC sú využívané hlavne pre analýzu modelových zmesí pyrethroidov a analýzu pyrethroidov v technologických vzorkách a produktoch.

Naproti tomu pre analýzu pyrethroidov v komplexných reálnych vzorkách (potraviny, pôda, voda, ovzdušie) sa viac využíva RP systém, čo pravdepodobne súvisí s jeho väčšou robustnosťou a odolnosťou voči vzorkou zapríčineným zmenám systému. Schopnosť polárnych mobilných fáz rozrušovať interakcie pyrethroidov s matricovými zložkami hrá významnú úlohu nielen pri analýze diastereoizomérov, ale aj enantiomérov pyrethroidov. Najčastejšie používanou detekčnou technikou je spektrofotometria v UV oblasti (220–281 nm), prípadne sa využíva polarimetrický detektor. Pretože pyrethroidy v komerčných produktoch pozostávajú zo zmesi oboch optických (1*R*; 1*S* alebo +; –) a geometrických (*cis*-, *trans*-) izomérov, súčasný trend smeruje k potrebe enantiomérených stanovení, a tým k zvýšenému počtu chirálnych separácií. Z uvedených článkov vyplýva, že väčšina separácií je zameraná na optimalizáciu separácie štandardných látok, len niekoľko prác sa zaoberá stanovením reziduí pyrethroidov, dôvo-



dom čoho môže byť značná obtiažnosť spracovania matric. Preto je táto problematika pre analytických chemikov neustále aktuálna.

#### Zoznam skratiek

ECD	detektor s elektrónovým záchyтом
FID	plameňovoionizačný detektor
MECC	micelárna elektrokinetická chromatografia
CE	kapilárna elektroforéza
LIF	laserom indukovaná fluorescencia
RP	reverznéfázový
NP	normálnéfázový
DAD	detektor s diódovým poľom
SFE	superkritická fluidná extrakcia
IPA	2-propanol
ACN	acetonitril
THF	tetrahydrofurán

Táto práca vznikla za podpory VEGA projektu č. 1/6222/99 a grantu UK č. 66/2001/UK.

#### LITERATÚRA

1. Cremllyn R.: *Pesticidy*. SNTL, Praha 1985.
2. Pacák J.: *Úvod do studia organické chemie*. SNTL, Praha 1982.
3. Williams A.: *Agrochemical Chirality*. Agrow Reports DS70, str. 41. PJB Publications, Richmond 1992.
4. Matsumura F.: *6<sup>th</sup> IUPAC Congress of Pesticide Chemistry, Ottawa, 10–15 August 1986* (Greenhalgh R., Roberts T. R., ed.), str. 155. Blackwell Scientific Publications, Oxford 1987.
5. Buser H. P., Francotte E., v knihe: *Chiral Separations: Applications and Technology* (Ahuja S., ed.), str. 119. American Chemical Society, Washington, D.C. 1997.
6. Casida J. E., Ruzo L. O.: *Pestic. Sci.* **11**, 257 (1980).
7. Demoute J. P.: *Pestic. Sci.* **27**, 375 (1989).
8. Tvendten S.: *The Best Control*, 2. vyd. na CD ROM; [www.safe2use.com/pests/lice/poisons.htm](http://www.safe2use.com/pests/lice/poisons.htm); 10.2.2001.
9. Vijverberg H. P. M., Vandenbercken J.: *Crit. Rev. Toxicol.* **21**, 105 (1990).
10. Aldridge W. N.: *Crit. Rev. Toxicol.* **21**, 89 (1990).
11. Ray D. E., v knihe: *Handbook of Pesticide Toxicology* (Hayes W. J., Laws E. R., ed.), str. 585. Academic Press, San Diego 1991.
12. Ray D. E., Forshaw P. J.: *Clinical Toxicology* **38**, 95 (2000).
13. Papadopoulou-Mourkidou E.: *Anal. Methods Pestic. Plant Growth Regul.* **16**, 179 (1988).
14. Yoshioka H., Miyamoto J.: *Kagaku-to-Seibutu (Chemistry and Biology)* **14**, 427 (1976).
15. Miyamoto J., Yoshioka H.: *Kagaku-to-Seibutsu (Chemistry and Biology)* **14**, 549 (1976).
16. Dombek V.: *Chem. Listy* **82**, 1163 (1982).
17. Wan H. B., Wong M. K., Lim P. Y., Mok C. Y.: *J. Chromatogr., A* **662**, 147 (1994).
18. Navickiene S., Kato M. H., Polese L., Minelli E. V., Riberio M. L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **360**, 252 (1998).
19. Jin H., Webster G. R. B.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **360**, 573 (1998).
20. Hadfield T., Sadler J. K., Bolygo E., Hill I. R.: *Pestic. Sci.* **34**, 207 (1992).
21. Nakamura Y., Tonogai Y., Tsumura Y., Ito Y.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **76**, 1348 (1993).
22. Woin P.: *Sci. Total. Environ.* **156**, 67 (1994).
23. Pang G. F., Fan C. L., Chao Y. Z., Zhao T. S.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **77**, 738 (1994).
24. Pang G. F., Chao Y. Z., Fan C. L., Zhang J. J., Li X. M.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **78**, 1481 (1995).
25. Class T. J., Kintrup J.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **340**, 446 (1991).
26. Simonaitas R. A., Cail R. S.: *Chromatographia* **18**, 556 (1984).
27. Bland P. D.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **68**, 592 (1985).
28. Ogierman L., Sobocik A.: *Chem. Anal. (Warsaw)* **36**, 97 (1991).
29. Gutiérrez A. F., Vidal J. L. M., Liébanas F. J. A., Casado A. G., Vílchez J. L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **360**, 568 (1998).
30. Vílchez J. L., Espinosa P., Arrebola F. J., Casado A. G.: *Anal. Sci.* **13**, 817 (1997).
31. Cayley G. R., Simpson B. W.: *J. Chromatogr., A* **356**, 123 (1986).
32. Papadopoulou-Mourkidou E., Iwata Y., Gunter F.: *J. Agric. Food Chem.* **31**, 629 (1983).
33. Mao J., Erstfeld K. M., Fackler P. H.: *J. Agric. Food Chem.* **41**, 596 (1993).
34. Meinard C., Bruneau P., Roche M.: *J. Chromatogr., A* **349**, 105 (1985).
35. Meinard C., Bruneau P., Perronnet J.: *J. Chromatogr., A* **349**, 109 (1985).
36. Ashraf S., Bartle K. D., Clifford A. A., Davies I. L., Moulder R.: *Chromatographia* **30**, 618 (1990).
37. Nishikawa Y.: *Anal. Sci.* **7**, 637 (1991).
38. Nishikawa Y.: *Anal. Sci.* **8**, 817 (1992).
39. Ševčík J., Lemr K., Stránský Z., Večeřa T., Hlaváč J.: *Chirality* **9**, 162 (1997).
40. Corbini G., Biondi C., Proietti D., Dreassi E., Corti P.: *Analyst* **118**, 183 (1993).
41. Hernández P., Vicente J., Hernández L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* **334**, 550 (1989).
42. Coomber D. C., Tucker D. J., Bond A. M.: *Anal. Chem.* **68**, 1267 (1996).
43. Raju R. V. P., Naidu R. R.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **77**, 748 (1994).
44. Karcher A., El Rassi Z.: *Electrophoresis* **18**, 1173 (1997).
45. Karcher A., El Rassi Z.: *Electrophoresis* **21**, 2043 (2000).
46. Dombek V.: *J. Chromatogr.* **545**, 427 (1991).
47. Coly A., Aaron J. J.: *Analyst* **119**, 1205 (1994).
48. Hill A. S., Mcdam D. P., Edward S. L., Skerritt J. H.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **41**, 2011 (1993).
49. Wengatz I., Stoutamire D. W., Gee S. J., Hammock B. D.: *J. Agric. Food Chem.* **46**, 2211 (1998).
50. Di Muccio A., Pelosi P., Barbini D. A.: *J. Chromatogr., A* **833**, 19 (1999).
51. Wang I.-H., Subramanian V., Moorman R., Burleson J., Ko J.: *J. Chromatogr., A* **766**, 277 (1997).
52. Wintersteiger R., Ofner B., Juan H., Windisch M.: *J. Chromatogr., A* **660**, 205 (1994).

53. Haddad P. R., Brayan J. G., Sharp G. J., Dilli S.: *J. Chromatogr.*, A 461, 337 (1989).
54. Frenich A. G., Galera M. M., Vidal J. L. M., García M. D. G.: *J. Chromatogr.*, A 727, 27 (1996).
55. Galera M. M., Vidal J. L. M., Frenich A. G., García M. D. G.: *J. Chromatogr.*, A 727, 39 (1996).
56. Atienza J., Jiménez J. J., Bernal J. L., Martín M. T.: *J. Chromatogr.*, A 655, 95 (1993).
57. Kutter J. P., Class T. J.: *Chromatographia* 33, 103 (1992).
58. Brouwer E. R., Struys E. A., Vreuls J. J., Brinkman U. A. T.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 350, 487 (1994).
59. Harbin D. N.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 78, 1335 (1995).
60. Bissacot D. Z., Vassilieff I.: *Vet. Human. Toxicol.* 39, 6 (1997).
61. Bissacot D. Z., Vassilieff I.: *J. Anal. Toxicol.* 21, 397 (1997).
62. Pavan F. A., Dallago R. M., Zanella R., Martins A. F.: *J. Agric. Food Chem.* 47, 174 (1999).
63. Pang G. F., Chao Y. Z., Liu X. S., Fan C. L.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 78, 1474 (1995).
64. Románová K.: *Diplomová práce*. PriF UK, Bratislava 2000.
65. Košická M.: *Diplomová práce*. PriF UK, Bratislava 2001.
66. Díaz A. N., Sánchez F. G., Pareja A. G.: *J. Chromatogr. Sci.* 36, 210 (1998).
67. Edwards D. P., Ford M. G.: *J. Chromatogr.*, A 777, 363 (1997).
68. Koppen B.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 77, 810 (1994).
69. Rieger S.: *Acta Univ. Palacki, Olomouc, Fac. Rerum Nat., Chem.* 29, 111 (1990).
70. Davidyuk E. I., Demchenko V. F., Klisenko M. A.: *J. Anal. Chem. (Moscow)* 52, 1058 (1997).
71. Lemr K., Ševčík J., Friedecký D., Jonaková A., Jirovský D.: *Acta Univ. Palacki, Olomouc, Fac. Rerum Nat., Chem.* 38, 41 (1999).
72. Dondi M., Flieger M., Olšovská J.: *J. Chromatogr.*, A 859, 133 (1999).
73. Lisseter S. G., Hambling S. G.: *J. Chromatogr.*, A 539, 207 (1991).
74. Oi N., Kitahara H., Kira R.: *J. Chromatogr.*, 515, 441 (1990).
75. Welch Ch. J., Szczerba T.: *Enantiomer* 3, 37 (1998).
76. Sánchez F. G., Díaz A. N., Pareja A. G.: *J. Chromatogr.* 754, 97 (1996).
77. Mourou D., Delépine B., Boisseau J., Gayot G.: *J. Chromatogr.*, A 168, 277 (1979).
78. Sapiets A., Swaine H., Tandy M. J., v kniže: *Analytical Methods for Pesticides and Plant Growth Regulators XIII.: Synthetic Pyrethroids and Other Pesticides* (Yweig G., Sherma J., ed.), str. 33. Academic Press, Orlando 1984.

**K. Románová and M. Hutta** (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*): **HPLC Analysis of Pyrethroids**

Applications of HPLC and determination of pyrethroids in different matrices (soil, water, air, fruits, vegetables and others) are reviewed. Their analysis still attracts attention due to their wide use as both household and industrial insecticides on one hand and controversial nature of their use on the other. From the analytical point of view, the problems lie in difficult separation of enantiomers and diastereoisomers because almost all pyrethroids are chiral compounds with 1–4 chirality centers.

*Zavedená farmaceutická firma hledá do výzkumného oddělení*

### **absolventy VŠ–specialisty**

na vývoj a validace analytických metod (HPLC, GC, titrace). Praxe v oboru a znalost AJ nutná.

Žádosti s profesním životopisem zašlete na  
Interpharma Praha, a.s., Komořanská 955, 143 10 Praha 12,  
fax 02/41 77 32 35, e-mail: [interpharma@interpharma-praha.cz](mailto:interpharma@interpharma-praha.cz),  
[www.interpharma-praha.com](http://www.interpharma-praha.com)