



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI  
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,  
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI  
PERSOANELOR VÂRSTNICE  
AMPOSDRU



Fondul Social European  
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale  
2007-2013



MINISTERUL  
EDUCAȚIEI  
NAȚIONALE  
OIPOSDRU



UNIVERSITATEA TEHNICĂ  
"GHEORGHE ASACHI" DIN  
IASI



UNIVERSITATEA „BABEȘ-BOLYAI”  
CLUJ-NAPOCA

Facultatea de Știința și Ingineria Mediului



# Evaluarea incidenței unor pesticide triazinice în probe de mediu și produse alimentare

- Rezumatul tezei de doctorat -

Conducător de doctorat:

Prof. univ. dr. Dumitru Ristoiu

Doctorand:

Andreea-Bianca Drăguș

CLUJ-NAPOCA - 2015



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI  
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI,  
PROTECȚIEI SOCIALE ȘI  
PERSOANELOR VÂRSTNICE  
AMPOSDRU



Fondul Social European  
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale  
2007-2013



MINISTERUL  
EDUCAȚIEI  
NAȚIONALE  
OIPOSDRU



UNIVERSITATEA TEHNICĂ  
"GHEORGHE ASACHI" DIN  
IASI

Teza de doctorat a fost realizată cu sprijinul financiar al proiectului **“STUDII DOCTORALE PENTRU PERFORMANȚE EUROPENE ÎN CERCETARE ȘI INOVARE (CUANTUMDOC)”** POSDRU/107/1.5/S/79407.

Proiectul **“STUDII DOCTORALE PENTRU PERFORMANȚE EUROPENE ÎN CERCETARE ȘI INOVARE (CUANTUMDOC)”** POSDRU/107/1.5/S/79407, este un proiect strategic care are ca obiectiv general *„Aplicarea de strategii manageriale, de cercetare și didactice destinate îmbunătățirii formării inițiale a viitorilor cercetători prin programul de studii universitare de doctorat, conform procesului de la Bologna, prin dezvoltarea unor competențe specifice cercetării științifice, dar și a unor competențe generale: managementul cercetării, competențe lingvistice și de comunicare, abilități de documentare, redactare, publicare și comunicare științifică, utilizarea mijloacelor moderne oferite de TIC, spiritul antreprenorial de transfer al rezultatelor cercetării. Dezvoltarea capitalului uman pentru cercetare și inovare va contribui pe termen lung la formarea doctoranzilor la nivel european cu preocupări interdisciplinare. Sprijinul financiar oferit doctoranzilor va asigura participarea la programe doctorale în țara și la stagii de cercetare în centre de cercetare sau universități din UE. Misiunea proiectului este formarea unui tânăr cercetător adaptat economiei de piață și noilor tehnologii, având cunoștințe teoretice, practice, economice și manageriale la nivel internațional, ce va promova principiile dezvoltării durabile și de protecție a mediului înconjurător.”*

Proiect finanțat în perioada 2010 - 2013

Finanțare proiect: **16.810.100,00 RON**

Beneficiar: Universitatea Tehnică “Gheorghe Asachi” din Iași

Partener: Universitatea „Babeș Bolyai” din Cluj-Napoca

Director proiect: Prof. univ. dr. ing. Mihai BUDESCU

Responsabil proiect partener: Prof. univ. dr. ing. Alexandru OZUNU

## Cuprins

I. INTRODUCERE .....	3
I.1 Introducere în tematica pesticidelor .....	3
I.2 Obiective și contribuții originale .....	4
I.3 Sinteza tezei .....	5
II. Studii privind incidența pesticidelor triazinice în mediu .....	6
II.1 Studii privind incidența pesticidelor triazinice în ape de fântână .....	6
II.1.1 Parte experimentală .....	7
II.1.2 Rezultate .....	8
II.1.3 Concluzii .....	10
II.2 Studii privind incidența pesticidelor triazinice în ape de suprafață .....	10
II.2.1 Parte experimentală și rezultate .....	12
II.2.2 Concluzii .....	13
II.3 Studii privind incidența pesticidelor triazinice în probe de sol .....	13
II.3.1 Parte experimentală .....	14
II.3.2 Procedura de extracție DLLME-SFO .....	15
II.3.3 Prepararea probelor reale de sol .....	16
II.3.4 Optimizarea metodei DLLME-SFO .....	16
II.3.4.1 Optimizare pH .....	16
II.3.4.2 Influența solventului de extracție .....	17
II.3.4.3 Influența efectului salin .....	18
II.3.5 Validarea metodei DLLME-SFO .....	18
II.3.6 Analiza pesticidelor triazinice în probe de sol .....	22
II.3.7 Rezultate .....	23
II.3.8 Concluzii .....	24
II.4 Studii privind incidența pesticidelor triazinice în produse alimentare -lapte neprocesat, miere de albine .....	24
II.4.1 Incidența pesticidelor triazinice în miere .....	24
II.4.2 Parte experimentală .....	25
II.4.3 Validarea metodei SPE .....	26
II.4.4 Rezultate analize probe de miere .....	27

II.4.5 Concluzii .....	29
II.5 Incidența pesticidelor triazinice în lapte.....	29
II.5.1 Parte experimentală.....	29
II.5.2 Optimizarea procedurii de extracție QuEChERS .....	30
II.5.3 Rezultate analize probe de lapte.....	31
II.5.4 Concluzii .....	34
III. Concluzii finale.....	34
Articole științifice ISI și BDI.....	37
Participări conferințe.....	38
Bibliografie selectivă .....	39

Cuvinte cheie: pesticide, triazine, cromatografie de lichide de înaltă performanță, sol, apă, lapte, miere

# I. INTRODUCERE

## I.1 Introducere în tematica pesticidelor

În ultimii ani, îngrijorările legate de creșterea populației și securitatea alimentară au fost subiecte care au interesat și interesează din ce în ce mai stringent atât societatea cât și comunitatea științifică. Dezvoltarea agriculturii moderne ar fi inferioară nivelului curent fără aplicarea pesticidelor. Pesticidele reprezintă marea categorie a unor substanțe chimice care au rolul de a combate diferite tipuri de dăunători. Controlul dăunătorilor prin metode chimice, asemănător cu ceea ce se desfășoară în zilele noastre, a început să prindă formă după al doilea Război Mondial. În anul 1946, a apărut pe piață primul erbicid 2,4-D, acesta făcând parte din categoria fenoxi erbicidelor folosit extensiv de către fermieri (Burnside, 1996).

Înainte de dezvoltarea sintezei chimice, controlul dăunătorilor era realizat cu produse de natură anorganică sau pe bază de plante, de exemplu, nicotina a fost cunoscută spre sfârșitul anilor 1600 drept un erbicid puternic, precum și piretroidele, extrase din crizanteme (Gilbert, 2012).

Odată cu utilizarea lor extrem de intensă, apar și efecte nedorite care se manifestă prin contaminarea compartimentelor de mediu și a lanțului trofic (Ackerman, 2007; Drăguș & Beldean-Galea, 2015a; Wang, D.-Q. et al., 2012).

Erbicidele triazinice fac parte din categoria erbicidelor selective care se pot aplica atât pre-emergent, cât și post-emergent, aspect care ridică eficiența lor. Deoarece acest tip de erbicide și produșii de degradare ai acestora sunt toxici, dar și solubili în apă și au capacitatea de a fi adsorbiți în sol, reprezintă o problemă cu care mediul, implicit omul, se confruntă (Drăguș & Ristoiu, 2012a; Prado et al., 2014). În Europa, concentrații de până la 5.6  $\mu\text{g/L}$  ale unor compuși triazinici au fost detectate în apele de suprafață (Quednow & Puttmann, 2007). Având în vedere mobilitatea acestor erbicide, prezența lor a fost detectată atât în apele subterane, cât și în apele pluviale (Boyd, 2000; Mast et al., 2007). În ceea ce privește efectele nocive asupra sănătății

umane, expunerea la triazine a fost asociată cu dezvoltarea cancerului ovarian și cancerului mamar (Donna et al., 1989; Kettles et al., 1997).

Determinarea erbicidelor triazinice în matrici complexe este extrem de dificilă datorită numeroaselor interferențe prezente în variate tipuri de probe. De aceea, extracția corespunzătoare a compușilor țintă reprezintă un pas foarte important într-un demers analitic. Tehnicile de extracție clasice, precum binecunoscuta tehnică Soxhlet sau extracția lichid-lichid, necesită volume semnificative de solvent, au loc într-un timp îndelungat și generează deșeuri. Din acest motiv, chimia analitică și-a îndreptat atenția către dezvoltarea unor tehnici moderne, miniaturizate care utilizează volume mult mai mici de solvent, sunt mult mai rapide, iar generarea deșeurilor este semnificativ redusă.

## **I.2 Obiective și contribuții originale**

Obiectivul prezentei lucrări a vizat, în special, optimizarea unei metode de analiză multicomponent care să fie capabilă să determine într-o singură analiză un număr cât mai mare de pesticide triazinice și, în același timp, să ofere o limită de detecție cât mai joasă, în concordanță cu concentrațiile la care acești compuși se găsesc în probele de mediu. S-a luat în studiu cromatografia de lichide de înaltă performanță întrucât, potrivit datelor din literatură, această metodă oferă posibilitatea realizării obiectivelor propuse. Metoda optimizată a fost supusă procedurii de validare în scopul studierii performanțelor, a evaluării erorilor ce însoțesc determinările și, nu în ultimul rând, a aplicabilității acestei metode la analiza probelor de mediu.

Partea experimentală se focalizează pe analiza acestei clase de pesticide în diverse probe de mediu, datele obținute putând sta la baza evaluării mecanismului de transfer al acestor produși și al expunerii umane.

Lucrarea de față cuprinde studii privind:

- Incidența pesticidelor triazinice în probe de apă de fântână prelevate din două regiuni din Transilvania, zona Cluj (Turda), respectiv Mureș (Sighișoara);
- Incidența pesticidelor triazinice în probe de apă de suprafață prelevate din bazinul Someșului Mic și bazinul superior al Tisei;
- Incidența pesticidelor triazinice în probe de sol recoltate din zona Transilvaniei, respectiv Moldova;

- Incidența pesticidelor triazinice în probe de miere de albine recoltate din zona Transilvaniei, Moldovei și Dobrogei;
- Incidența pesticidelor triazinice în probe de lapte recoltate din zona Transilvaniei.

Este important de menționat că pentru fiecare tip de matrice (apă, sol, miere și lapte) au fost dezvoltate și validate protocoale specifice de extracție și de purificare a extractelor, luându-se în studiu cele mai recente tehnici de extracție, precum extracția pe fază solidă, microextracția în fază lichidă sau metoda QuEChERS.

### I.3 Sinteza tezei

Teza este structurată pe două părți majore, partea teoretică și partea experimentală. În începutul lucrării se regăsește o introducere generală în tematica pesticidelor și o schițare a problemelor reprezentate de utilizarea acestora.

Partea teoretică este formată din trei capitole, rolul fiecăruia fiind succint descris în cele ce urmează. **Capitolul I** face o caracterizare a marilor clase de pesticide, abordează rolul pesticidelor în combaterea dăunătorilor, rolul lor în societate și toxicitatea acestor tipuri de substanțe. **Capitolul II** și **Capitolul III** vor cuprinde o descriere detaliată a compușilor organici care fac subiectul prezentei lucrări, mai exact erbicidele triazinice, cât și tratarea unei palete largi de metode de analiză și extracție a acestora din diferite matrici.

Partea experimentală începe de la **Capitolul IV**, capitolul principal al acestei teze care se va axa pe contribuțiile personale ce cuprind investigarea erbicidelor triazinice din diferite matrici (sol, ape de suprafață, ape subterane, miere, lapte neprocesat) și optimizarea unei metode de analiză a acestor agrochimicale. Ultimul capitol, **Capitolul V**, va trasa o serie de concluzii generale legate de abordarea experimentală și va identifica o serie de perspective de viitor, care vor încheia prezenta teză.

Sursele bibliografice se vor regăsi în **Bibliografie**. Lucrarea cuprinde 21 de tabele și 42 de figuri.

## **II. Studii privind incidența pesticidelor triazinice în mediu**

Monitorizarea factorilor de mediu face parte din ansamblul de operațiuni care stau la baza unei strategii complete și consecvente legate de calitatea acestuia. Fiecare factor de mediu, indiferent că vorbim de apă, sol sau aer poate fi contaminat prin surse punctiforme, precum unitățile de procesare a pesticidelor sau prin surse difuze, precum agricultura (Drăguș et al., 2012b). Contaminarea factorilor de mediu prin surse punctiforme implică abilitatea de a depista cu exactitate sursa de unde provin anumite substanțe cu potențial toxic, în timp ce în cazul punctelor difuze, după cum spune și numele, sursa compusului sau compuşilor problematici nu poate fi identificată cu exactitate. Agricultura este considerată a fi o sursă de contaminare difuză, iar efectele sinergice se reflectă asupra calității factorilor de mediu. Utilizarea pesticidelor triazinice în combaterea buruienilor din culturile agricole a dus, pe de o parte, la creșterea producțiilor agricole, a redus numărul lucrărilor agricole necesare culturilor, dar, în același timp, a crescut riscul de expunere a populației la aceste tipuri de chimicale. Conform studiilor de specialitate, pesticidele triazinice prezintă persistență ridicată în ape, sol, sedimente, solide suspendate și pot duce la o poluare-contaminare difuză a factorilor de mediu (Bottoni et al., 2013; Du Prez et al., 2005; Dagnac et al., 2005; Gfrerer et al., 2002).

În continuare sunt prezentate rezultatele studiilor referitoare la prezența pesticidelor triazinice în diverși factori de mediu precum și în unele produse alimentare a căror obținere este strâns legată de factorii de mediu. Studiile s-au focalizat pe analiza acestor compuși în ape de fântână, respectiv ape de suprafață, sol, precum și în miere de albine și lapte de bovine.

### **II.1 Studii privind incidența pesticidelor triazinice în ape de fântână**

Beneficiarul principal al utilizării pesticidelor triazinice este agricultura. Acestea sunt aplicate în special pe culturile de porumb cu scopul de a distruge buruienile atât în mod pre-emergent, cât și post-emergent. Deoarece aceste pesticide sunt foarte mobile în mediu, capacitatea lor de a ajunge în acviferele din proximitatea zonelor agricole este ridicată.

Obiectivul acestui studiu a constat în analiza incidenței pesticidelor triazinice din apele de fântână din două zone cu activități agricole diferite, respectiv Turda, județul Cluj și zona



Sighișoara, județul Mureș. Datele obținute pot sta la baza unor programe de evaluare a expunerii la aceste pesticide a populației care utilizează această apă în scopuri menajere. Studiul s-a efectuat în perioada mai - iulie 2011, perioadă în care este recomandată utilizarea acestor pesticide.

## II.1.1 Parte experimentală

### *Materiale și solvenți*

Pentru studiile efectuate s-a folosit un amestec de patru pesticide triazinice (simazina, atrazina, propazina, trietazina) care a fost achiziționat de la Supelco, S.U.A. Pentru analize s-a preparat o soluție etalon de concentrație 2 ppm ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Solvenții de extracție (metanol, acetonă și acetonitril) de puritate HPLC au fost obținuți de la Merck (Darmstadt, Germania). Extracția compușilor din matricea apoasă s-a efectuat prin extracție pe fază solidă utilizând un sistem SPE de fabricație Supelco (S.U.A.) .

Pentru extracții s-au folosit cartușe de extracție pe bază de silicagel de tipul Strata C18 EC (end capping) de producție Phenomenex (S.U.A.).

Apă utilizată pentru prepararea fazei mobile și pentru condiționarea cartușelor de extracție a fost obținută cu un sistem de purificare Milli-Q-Plus de fabricație Millipore (Milford, MA, USA). Determinarea analiților s-a făcut utilizând un cromatograf de lichide de înaltă performanță model ABL&E Jasco-980 echipat cu o pompă de înaltă presiune JASCO PU-980, detector UV-vis JASCO UV-980-975. Separarea compușilor s-a făcut utilizând o coloană NUCLEOSIL 100 C<sub>18</sub> (25 cm x 4 mm ID) cu o fază mobilă acetonitril : apă (55: 45, v/v), detecția la o lungime de undă de 220 nm, iar prelucrarea datelor a fost făcută cu ajutorul softului Soft ChromPASS.

Pentru studiu s-a prelevat câte 1 litru de apă din fântânile din zonele de interes, în sticle de polietilenă care au fost păstrate la frigider, la o temperatură de 4°C până în momentul extracției. Înainte de trecerea prin cartușul de extracție, probele de apă au fost filtrate printr-un filtru de nailon de porozitate 0.45  $\mu\text{m}$  procurat de la Phenomenex (USA).

### *Procedura de extracție*

Condiționarea cartușelor C<sub>18</sub> EC (Phenomenex, S.U.A.) s-a făcut după cum urmează:  
♦5 mL apă; ♦5 mL MeOH; ♦5 mL apă.

După condiționarea cartușelor, 400 mL probă de apă a fost trecută print cartușul de extracție la un debit de 2 mL/min. Pentru eluția compușilor reținuți pe cartușul de extracție s-au folosit 3 mL acetonă. Eluatul obținut a fost supus evaporării la sec, după care reziduul a fost reluat cu 200  $\mu$ L ACN și analizat prin cromatografie de lichide de înaltă performanță.

## II.1.2 Rezultate

În urma analizelor s-a constatat că atrazina a fost compusul predominant regăsit în probele de apă cu o concentrație cuprinsă între 3.07-8.07  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. Propazina a fost de asemenea identificată în probele analizate, dar într-o concentrație mult mai scăzută decât atrazina și anume între 0.05-2.87  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. Trietazina a fost detectată într-o singură probă de apă, iar simazina a fost detectată doar în probele din zona Turda cu o concentrație cuprinsă între 0.05-0.07  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. O cromatogramă a unei probe de apă (cod probă P5) din care reiese prezența triazinelor este prezentată în figura 1, iar în tabelul 1 sunt prezentate rezultatele pentru toate probele de apă analizate.

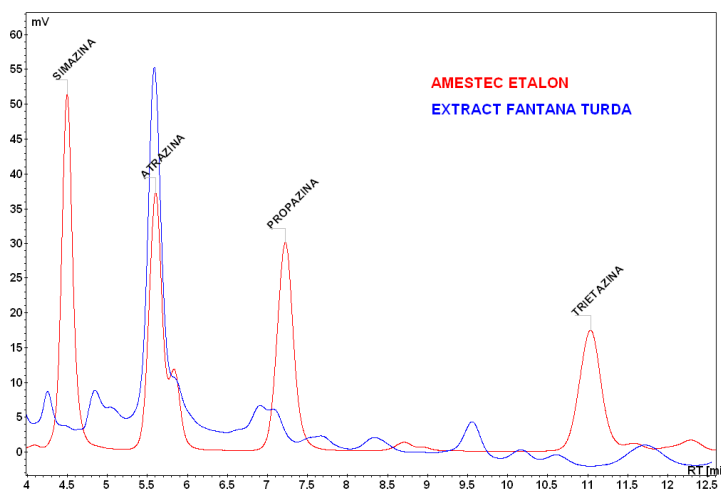


Fig. 1 Cromatograma unei probe de apă de fântână (cod probă P5) și a unui amestec etalon (culoarea roșu - etalon; culoarea albastru - extract proba apă)

Tabel 1. Conținutul de pesticide triazinice în probele de apă de fântână analizate

<b>Puncte prelevare</b>	<b>Simazina (µg/L)</b>	<b>Atrazina (µg/L)</b>	<b>Propazina (µg/L)</b>	<b>Trietazina (µg/L)</b>	<b>Suma (µg/L)</b>
<b>Turda</b>					
P1	0.15	3.07	0.2	nd	3.42
P2	0.1	7.5	2.87	nd	10.47
P3	0.1	6.6	0.22	0.07	6.99
P4	nd	5.8	0.2	nd	6
P5	nd	8.07	nd	nd	8.07
<b>Sighișoara</b>					
P6	nd	5.2	nd	nd	5.2
P7	nd	4.6	nd	nd	4.6
P8	nd	5.47	nd	nd	5.47
<b>CMA U.S. E.P.A.</b>	3	4	-	-	-
<b>CMA U.E.</b>	0.1	0.1	0.1	0.1	0.5

nd - sub limita de detecție

- limită nestabilită

Potrivit datelor prezentate în tabelul 1 în probele de apă de fântână analizate s-au găsit concentrații care depășesc concentrația maximă admisă conform Directivei nr. 98/83/CE privind calitatea apei destinată consumului uman, însă România a obținut o perioadă de tranziție etapizată până în 2010, respectiv 2015 pentru anumite zone.

Atrazina a fost detectată în toate probele analizate, în timp ce propazina a fost detectată în 50% din probe, simazina în 37%, iar trietazina s-a regăsit într-un procentaj de 12%. Se poate observa din tabelul 7 faptul că în zona cu o activitate agricolă ridicată - zona Turda, pesticidele triazinice s-au regăsit într-un procentaj mai mare, în timp ce în zona cu activitate agricolă scăzută - zona Sighișoara, procentajul este mult mai mic. În Sighișoara, atrazina a fost singurul compus detectat, în timp ce restul triazinelor au fost sub limita de detecție. Acest aspect scoate în evidență faptul că acviferele au fost contaminate prin percolare de la stropire, circumstanță evidențiată și în literatură (Nordmark et al., 2008).

### II.1.3 Concluzii

Procedura de analiză și extracție a unor compuși ce aparțin clasei de erbicide triazinice a fost aplicată cu succes în cazul unor probe de apă subterană din zone ale Transilvaniei cu acvități agricole diferite. Prezența agrochimicelor a fost detectată conform așteptărilor în zona unde activitatea agricolă este predominantă. Pentru comunitățile rurale unde rețelele de apă potabilă lipsesc, iar concentrațiile depășesc  $0.1 \mu\text{g/L}$ , activitățile de investigare trebuie completate cu activități de monitorizare.

### II.2 Studii privind incidența pesticidelor triazinice în ape de suprafață

Studiul de față s-a axat pe analiza pesticidelor triazinice în probe de apă de suprafață prelevate din bazinul Someșului Mic și din bazinul superior al Tisei. Alegerea s-a făcut cu scopul de a vedea dacă există diferențe între zone cu activități agricole diferite și dacă utilizarea pesticidelor în agricultură constituie o sursă de poluare difuză a cursurilor de ape de suprafață.

În cazul bazinului Someșul Mic s-au prelevat 5 probe de apă și anume:

- după Apahida,
- după Răscruci,
- după Gherla,
- amonte Dej
- Dej după vărsare în Someșul Mare.

În cazul bazinului superior al Tisei s-au făcut 5 prelevări de probe și anume:

- Râul Vișeu aval Vișeu de Jos,
- Râul Vișeu la Valea Vișeuului,
- Râul Iza după confluență cu Mara la Vadul Izei,
- Râul Iza după Sighetul Marmației,
- Râul Tisa la Sarasău.

Zonele luate în studiul și punctele de prelevare sunt prezentate în Fig. 2 și Fig. 3.

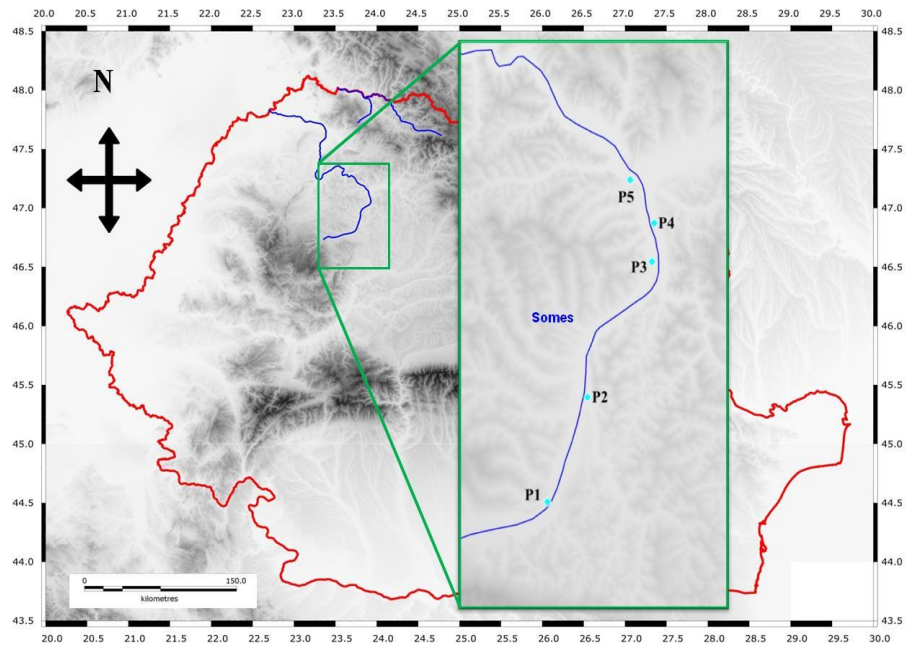


Fig. 2 Zona și punctele de prelevare a probelor de apă Somes

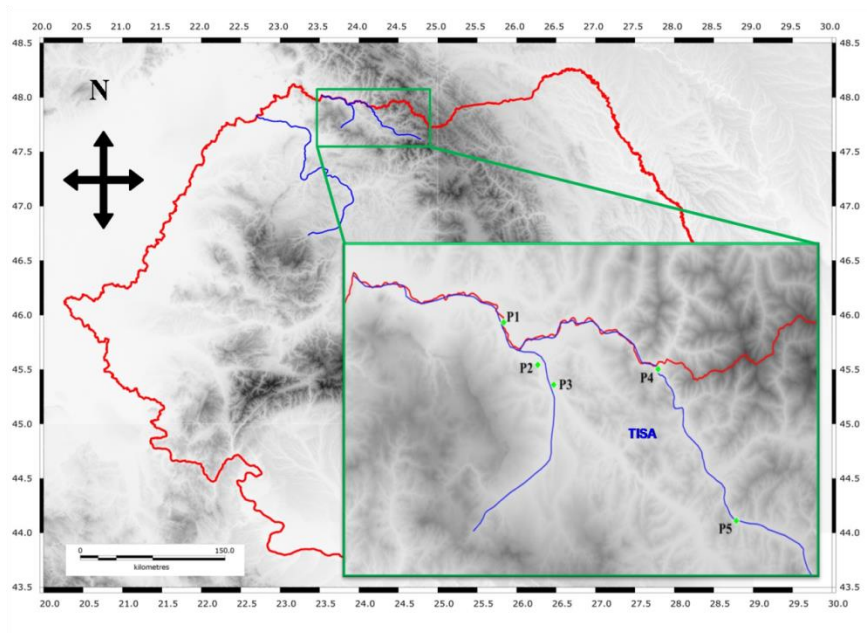


Fig. 3 Zona și punctele de prelevare a probelor de apă Tisa

## II.2.1 Parte experimentală și rezultate

Extracția pesticidelor triazinice din probele de apă s-a făcut conform protocolului descris la analiza apelor de fântână cu mențiunea că pe cartușele de extracție s-a utilizat acetonitrilul. În vederea verificării exactității metodei de extracție, o probă de 400 de mililitri de apă a fost contaminată cu 500 nanograme standard și extrasă conform procedurii descrise anterior. Gradele de recuperare a pesticidelor triazinice se situează peste valoarea considerată a fi acceptabilă de metodologia validării, fiind peste 80% pentru toți compușii. Valorile gradelor de recuperare obținute sunt prezentate în tabelul 2.

Tabel 2. Gradele de recuperare pentru compușii studiați

Compuși	Grad de recuperare (%)
<b>Simazina</b>	93.67
<b>Prometon</b>	96.62
<b>Atrazina</b>	103.48
<b>Ametrina</b>	93.35
<b>Propazina</b>	97.21
<b>Prometrin</b>	96.70
<b>Terbutrin</b>	99.17

Analiza pesticidelor triazinice în probele de apă de suprafață s-a efectuat prin cromatografie de lichide de înaltă performanță, utilizând aparatura și metodologia descrisă în capitolul IV.2 Validarea metodei de analiză (a se vedea teza de doctorat).

Rezultatele analizelor efectuate pe apele de suprafață arată că în cazul probelor din bazinul Tisa, prezența triazinelor nu a fost detectată, acest aspect datorându-se rarității culturilor agricole din proximitatea punctelor de prelevare. Însă, în bazinul Someșului Mic, culturile agricole, în special de porumb, se situează extrem de aproape de cursul de apă. Concentrațiile găsite sunt cuprinse între 0.08 - 5.29  $\mu\text{g/L}$  (Tabel 3).

Tabel 3. Prezența erbicidelor triazinice în probe de apă de suprafață - bazinul Someșului

Mic

Punct prelevare	Simazina (µg/L)	Prometon (µg/L)	Atrazina (µg/L)	Ametrina (µg/L)	Propazina (µg/L)	Prometrin (µg/L)	Terbutrin (µg/L)
Apahida	0.09	nd*	nd	nd	nd	nd	nd
Răscruci	0.09	nd	0.15	nd	0.18	nd	nd
Gherla	0.17	nd	0.27	nd	0.41	nd	nd
Dej	0.08	nd	nd	nd	0.12	nd	nd
Dej vărsare	0.52	nd	5.29	1.86	nd	nd	nd

\*nd - not detected

Conform datelor din tabelul 3, compusul predominant care se regăsește în toate probele este simazina cu concentrații cuprinse între 0.08 - 0.52 µg/L. Atrazina și propazina au fost detectate în 60% din probe, în timp ce prometonul, prometrinul și terbutrinul nu au fost detectați.

## II.2.2 Concluzii

Atrazina, simazina și terbutrinul fac parte din categoria substanțelor prioritare din domeniul politicii apei care se regăsesc în cadrul Directivei 2013/39/UE care modifică Directivele 2000/60/CE și 2008/105/CE. Concentrația maximă admisă (CMA) în cazul atrazinei este de 2 µg/L, CMA pentru simazina este de 4 µg/L, iar pentru terbutrin avem o CMA de 0.34 µg/L. Conform acestor date, rezultatele menționate mai sus nu înregistrează depășiri, cu excepția atrazinei în zona Dej vărsare. Această situație s-ar putea explica prin faptul că se aduc de pe cursurile afluenților reziduuri de pesticide care se acumulează la confluența Someșului Mare cu a Someșului Mic.

## II.3 Studii privind incidența pesticidelor triazinice în probe de sol

Deși anumiți reprezentanți ai triazinelor au fost interziși în Uniunea Europeană, pesticidele triazinice reprezintă unele dintre cele mai utilizate clase de pesticide din Statele Unite ale

Americii și de pe continentul asiatic. Triazinele sunt aplicate la o rată de 1.12-2.24 kg/ha, ceea ce conduce la o concentrație în sol de până la 3.6 mg/kg (Funari et al., 1998). În sol, transportul și degradarea acestor compuși sunt influențate de numeroși factori, precum pH-ul, tipul solului, temperatura, umiditatea și activitatea microbiană, iar prin percolare pot fi o sursă de contaminare a apelor subterane (Koskinen et al., 2008; LeBaron, 1970). Persistența lor în sol s-a dovedit a fi cuprinsă între 30-245 zile (Accinelli et al., 2001; Li et al., 2008).

Deși eficiența metodelor clasice de extracție, precum SPE și LLE nu poate fi negată, recent, trendul metodelor de extracție are o abordare mult mai prietenoasă pentru mediu. Metode de extracție moderne, precum SBSE și MAE sunt câteva dintre noile abordări din chimia analitică utilizate pentru extracția compușilor triazinici din sol (Nakamura & Daishima, 2005; Shah et al., 2011).

Obiectivul acestui studiu a fost dezvoltarea unei metode moderne, performante de extracție a compușilor triazinici din sol. Metoda de extracție a fost aplicată pe probe reale de sol pentru a evalua eficiența acesteia. Pentru o extracție corespunzătoare au fost supuși optimizării următorii factori: adăugarea de sare, pH-ul și tipul de solvent de extracție.

### **II.3.1 Parte experimentală**

#### *Reactivi și substanțe*

Amestecul etalon care conține un amestec de șapte pesticide triazinice (simazina, prometon, atrazina, ametrina, propazina, prometrin și terbutrin) de puritate >98% a fost achiziționat de la Sigma-Aldrich. Solvenții de extracție 1-undecanol, acetonitril, metanol și acetona au fost achiziționați de la Merck (Germania). Apa utilizată pentru prepararea fazei mobile și pentru prepararea probelor a fost obținută utilizând un sistem de purificare Milli-Q-Plus ultra-pure water de fabricație Millipore (Milford, MA, USA).



### *Instrumentație și condiții cromatografice*

Analizele compușilor triazinici s-au făcut pe un sistem HPLC, model Shimadzu, echipat cu o pompă tip 10 LC, detector UV/Vis 10 LSD conform protocolului descris în capitolul V.1 Validarea metodei de analiză. Detecția pesticidelor s-a făcut la o lungime de undă de 220 nm. Separarea analiților a fost realizată pe o coloană cu fază inversă de tipul Nova Pak C<sub>18</sub> (3.9 mm x300 mm, 4μm diametrul particulelor). Eluția compușilor s-a făcut în mod izocratic utilizând ca și fază mobilă un amestec de 25 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> și acetonitril (60:40, v/v), la un debit de 1.2 mL min.

Pentru centrifugarea probelor, s-a folosit o centrifugă Eppendorf, model 5804 R (Austria). Pentru ultrasonare s-a folosit o baie de ultrasonare model Elmasonic S 10 H (Germania).

### **II.3.2 Procedura de extracție DLLME-SFO**

Un volum de 10 mL apă Milli-Q (adusă la pH 8 cu 0.1 M NaOH) a fost plasat într-o eprubetă conică și contaminat cu standardul de triazine. Soluția de concentrație 10 ppm cu care s-a lucrat s-a obținut prin diluția standardului cu metanol. 2 g de NaCl au fost apoi adăugate în soluție, urmat de o agitare energetică. După diluția sării, în probă s-au adăugat 200 μL amestec de extracție care conține 150 μL acetonitril, drept dispersor și 50 μL 1-undecanol, drept solvent de extracție. Se va observa formarea unei soluții turbide (cloudy solution), aceasta datorându-se dispersiei picăturilor de 1-undecanol în soluția apoasă. Pentru separarea fazelor din soluție proba a fost centrifugată 4 minute la 4500 rpm. După centrifugare, eprubeta a fost introdusă într-o baie de gheață timp de 10 minute pentru solidificarea solventului de extracție. După solidificarea acestuia, solventul de extracție care se regăsește în partea superioară a eprubetei a fost colectat și transferat într-o eprubetă conică.

După separarea solventului de extracție acesta a fost lăsat să ajungă în stare lichidă la temperatura camerei, umând ca apoi un volum de 5 μL din extract să fie injectat în sistemul HPLC pentru analiză.

### **II.3.3 Prepararea probelor reale de sol**

Pentru această etapă s-au cântărit 3 g de sol, uscat în prealabil la temperatura camerei și mojarat, apoi fiind plasate într-o eprubetă conică cu capac cu filet. Deoarece pesticidele triazinice sunt polare, solventul de extracție ales a fost metanolul. S-a adăugat un volum de 3 mL MeOH, proba fiind agitată viguros timp de 15 minute, apoi supusă ultrasonării timp de 15 minute și centrifugării pentru 4 min la 4500 rpm.

Într-o eprubetă conică prevăzută cu filet de 15 mL s-au adăugat 10 mL apă Milli-Q (ajustată la pH 8 cu 0.1 M NaOH), apoi s-a transferat 1 mL din faza limpede separată în urma centrifugării probei de sol, adăugându-se 2 g NaCl și 200  $\mu$ L amestec extracție. Pentru separarea fazelor, soluția rezultată a fost centrifugată timp de 5 minute la 4500 rpm. După centrifugare proba a fost introdusă într-o baie de gheață timp de 10 minute. Prin răcire, solventul de extracție s-a solidificat la suprafața amestecului, colectat și analizat conform protocolului descris.

### **II.3.4 Optimizarea metodei DLLME-SFO**

#### ***II.3.4.1 Optimizare pH***

Pentru extracția pesticidelor triazinice din apă s-a folosit o metodă de extracție miniaturizată adaptată după Sanagi et al. (2012). Metoda a fost adaptată în ceea ce privește ajustarea pH-ului pentru a crește gradul de recuperare a compușilor. Pentru aceasta s-a efectuat un studiu de recuperare a analiților la diverse valori ale pH-ului în scopul eficientizării extracției. 10 mL apă Milli-Q contaminată cu 100 ng din fiecare pesticid triazinic au fost aduse la diferite valori de pH: respectiv 2, 3, 4, 5, 7 și 8 cu ajutorul unor soluții de NaOH 0.1 M. S-au adăugat 0.5 g NaCl și 200  $\mu$ L amestec extracție ce conține 150  $\mu$ L acetonitril și 50  $\mu$ L 1-undecanol și s-a procedat la extracția compușilor de interes conform protocolului descris anterior. Rezultatele studiului au arătat că eficiența extracției crește odată cu creșterea pH-ului (Fig. 4). Astfel pentru extracțiile ulterioare s-a ales un pH 8.

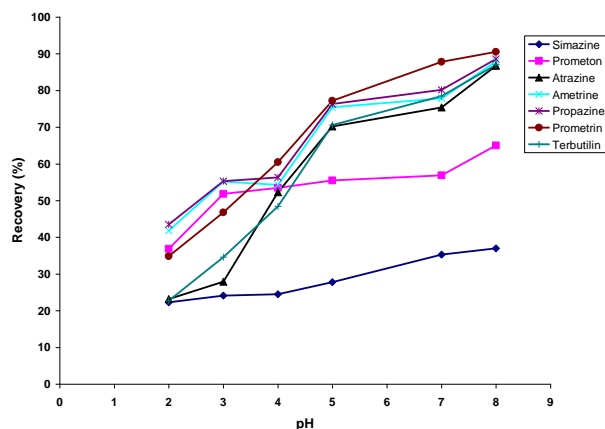


Fig 4. Influența pH asupra eficienței extracției

### II.3.4.2 Influența solventului de extracție

În această studiu s-au comparat eficiențele de extracție a pesticidelor triazinice din sol a trei solvenți și anume acetonă, acetonitril și metanol. Pentru acest lucru trei probe de sol fiecare în triplicat au fost contaminate cu 300 ng pesticide. Fiecare probă de sol a fost extrasă cu unul dintre cei trei solvenți enumerați. Pentru a spori eficiența de extracție pe lângă agitarea manuală probele au fost ultrasonate timp de 15 minute. După ultrasonare, probele au fost centrifugate, iar apoi din fiecare probă s-a luat 1 mL din supernatant și s-a introdus în 10 mL probă de apă acidifiată la pH 8 (vezi paragraful anterior) și extras conform protocolului descris.

Factorul de îmbogățire a fost mai ridicat în cazul metanolului, așadar în analizele ulterioare, metanolul a fost ales ca și solvent de extracție (Tabel 4).

Tabel 4. Factorul de îmbogățire pentru cei trei solvenți testați (acetonă, acetonitril, metanol)

Compuși	Acetonă	Acetonitril	Metanol
Simazina	24	55	80
Prometon	80	65	96
Atrazina	46	35	99
Ametrina	70	68	98
Propazina	72	63	97
Prometrin	91	45	103
Terbutrin	93	33	97

### II.3.4.3 Influența efectului salin

Eficiența extracției este îmbunătățită cu ajutorul adaosului de sare. Acest aspect descrește solubilitatea analiților în faza apoasă și îmbunătățește partiția lor în faza organică. Pentru a investiga influența efectului salin s-au efectuat diferite experimente în care s-au adăugat diferite concentrații de NaCl (0.5-2.5%) în faza apoasă. Graficul din fig. 5 arată în mod clar faptul că eficiența extracției crește odată cu concentrația de NaCl până când se ajunge la pragul de 2%, apoi eficiența extracției descrește. Pentru studiile ulterioare, au fost utilizate 2 g NaCl.

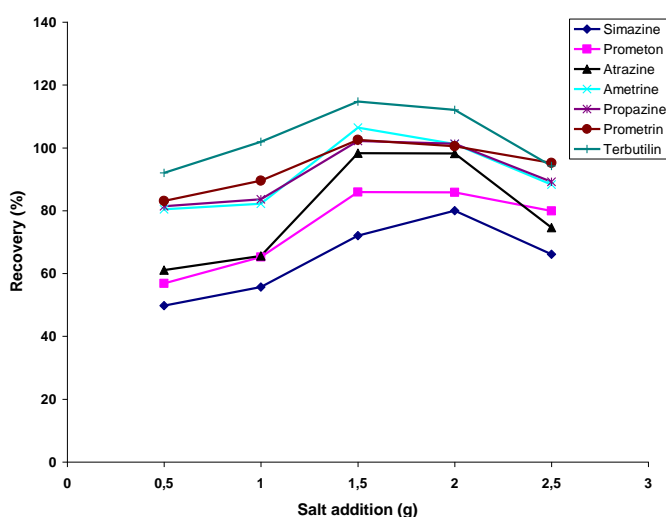


Fig. 5 Influența efectului salin asupra gradului de recuperare

### II.3.5 Validarea metodei DLLME-SFO

Validarea metodei de extracție s-a făcut prin prisma exactității, repetabilității, liniarității, limitei de detecție, respectiv limitei de cuantificare.

#### Exactitatea

Pentru studiul exactității 3 grame de sol uscat la temperatura camerei și mojarat a fost contaminat cu 200 ng din fiecare pesticid și s-a urmărit gradul de recuperare al acestora după metoda de extracție dezvoltată. Formula de calcul a randamentului de extracție este:

$$\text{Recuperare (\%)} = ((C_{\text{regăsită}} / C_{\text{Contaminată}}) - C_{\text{inițială}}) \times 100$$

Rezultatele experimentelor efectuate arată o bună recuperare a analiților, peste 80% ceea ce reprezintă o bună exactitate a metodei de extracție. Rezultatele obținute pentru fiecare compus luat în studiu sunt prezentate în tabelul 5. În figura 6 sunt prezentate o proba de sol ca atare (cod probă 2B) și o probă contaminată cu 200 ng etalon triazine.

Tabel 5. Gradele de recuperare obținute pentru triazinele studiate

Compus	Concentrație inițială	Concentrație adăugată (μg/kg)	Concentrație regăsită (μg/kg)	Grad de recuperare (%)
Simazina	nd*	1.33	0.798	60.00
Prometon	nd	1.33	1.286	96.69
Atrazina	0.32	1.33	1.681	102.33
Ametrina	nd	1.33	1.304	98.05
Propazina	0.55	1.33	1.871	99.32
Prometrin	1.53	1.33	2.889	102.18
Terbutrin	nd	1.33	1.416	106.46

\*nd - not detected

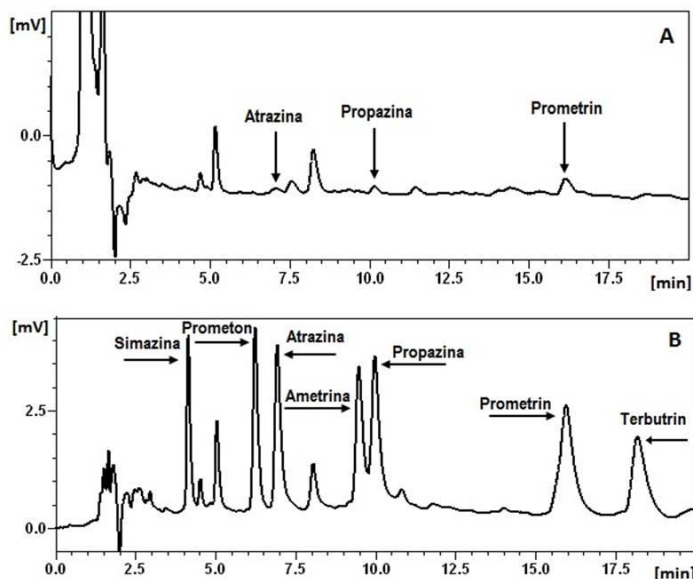


Fig. 6 Proba de sol ca atare A (cod probă 2B) și proba de sol contaminată B extrase după protocolul dezvoltat și analizate prin HPLC

## Repetabilitatea

Pentru studiul repetabilității, cinci probe de sol au fost contaminate cu 300 ng din fiecare pesticid și supuse extracției după protocolul descris anterior. Probele extrase s-au analizat prin HPLC și s-a estimat deviația standard relativă (DSR) a concentrațiilor obținute pentru fiecare compus în fiecare probă. Rezultatele arată o bună repetabilitate a metodei, valorile DSR fiind sub 8%, valori considerate a satisface cerințele metodei la nivelurile de concentrație cu care au fost contaminate probele. Valorile obținute pentru fiecare compus sunt prezentate în tabelul 6.

Tabel 6. Deviația standard relativă a compușilor studiați

Compus	DSR % (n=5)
Simazina	10.42
Prometon	9.51
Atrazina	6.74
Ametrina	5.91
Propazina	6.68
Prometrin	5.23
Terbutrin	7.31

## Liniaritatea

Pentru studiul liniarității metodei, s-au preparat cinci probe de sol conform protocolului descris la anterior, care au fost contaminate cu concentrații diferite de pesticide. Probele au fost apoi extrase conform procedurii descrise și analizate prin cromatografie de lichide de înaltă performanță. Linearitatea s-a reprezentat grafic prin aria compușilor de interes în funcție de concentrație. Cantitățile cu care au fost contaminate probele au fost: 50 ng, 100 ng, 200 ng, 300 ng, 400 ng în 3 grame de sol uscat și mojarat.

Reprezentarea grafică ne arată o bună liniaritate a metodei, valorile coeficientului de corelație ( $r^2$ ) fiind peste 0,99 pentru toți compușii luați în calcul. Graficele obținute pentru compușii studiați sunt prezentate în figura 7, iar curbele de calibrare și coeficientul de corelație  $r^2$  în tabelul 7.

Tabel 7. Ecuțiile drepte și valorile  $r^2$

Compus	Ecuții drepte	$r^2$
<b>Simazina</b>	$y = 496.73 x + 1403.7$	0.996
<b>Prometon</b>	$y = 562.79 x - 800.65$	0.992
<b>Atrazina</b>	$y = 548.82 x - 408.91$	0.999
<b>Ametrina</b>	$y = 753.71 x - 9423.5$	0.998
<b>Propazina</b>	$y = 752 x - 8618.7$	0.999
<b>Prometrin</b>	$y = 771.79 x - 8691.1$	0.996
<b>Terbutrin</b>	$y = 694.68 x - 1235.2$	0.999

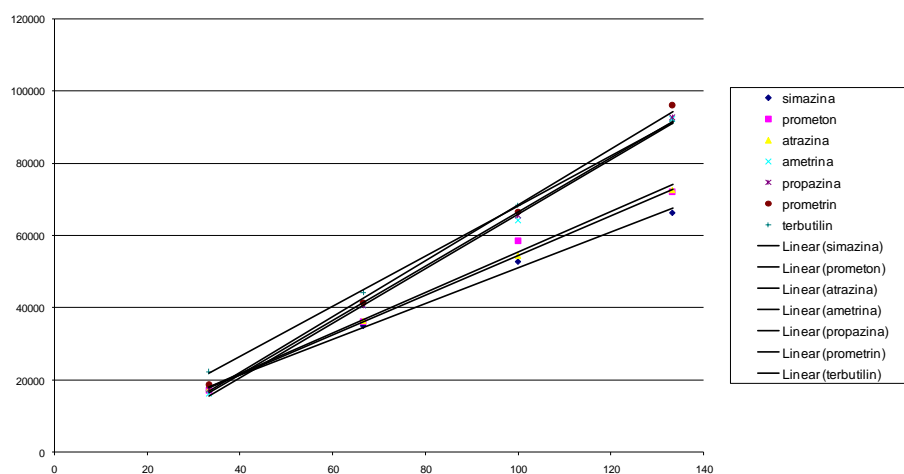


Fig. 7 Linearitatea metodei de extracție

Limita de detecție și limita de cuantificare s-a calculat luând în considerare deviația standard (DS) a unei probe contaminate cu 100 ng pesticid pe gram de sol și valorile pantelor curbelor de calibrare obținute pe probe de sol contaminate. Valorile LOD și LOQ obținute pentru compușii studiați sunt prezentate în tabelul 8.

Tabel 8. Valorile LOD și LOQ pentru compușii studiați

Compusul	Valoare DS	Valoare pantă	LOD ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	LOQ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	FI
<b>Simazina</b>	0.08	496.73	0.54	1.63	176
<b>Prometon</b>	0.10	562.79	0.59	1.79	189
<b>Atrazina</b>	0.05	548.82	0.30	0.91	216
<b>Ametrina</b>	0.04	753.71	0.19	0.57	218
<b>Propazina</b>	0.06	752	0.25	0.74	220
<b>Prometrin</b>	0.05	771.79	0.21	0.62	221
<b>Terbutrin</b>	0.14	694.68	0.68	2.06	247

### II.3.6 Analiza pesticidelor triazinice în probe de sol

Metoda dezvoltată a fost aplicată la analiza conținutului de pesticide triazinice în probe de sol prelevate din diverse zone agricole ale României. Unele probe au fost prelevate la puțin timp după aplicarea erbicidelor pe culturile agricole, altele au fost prelevate după o perioadă de câteva luni de la aplicare cu scopul de a scoate în evidență persistența acestor pesticide în sol.

Tipul de cultură și proveniența solului sunt prezentate în tabelul 9.

Tabel 9. Proveniența solului prelevat

Cod probă	Tip cultură	Zona (Comuna/Județ)
<b>1C</b>	porumb	Cojocna, Cluj
<b>2 B</b>	porumb	Mărișelu, Bistrița-Năsăud
<b>3 B</b>	grâu	Șieu-Măgheruș, Bistrița-Năsăud
<b>4 S</b>	grâu	Stroiești, Suceva
<b>5 V</b>	grâu	Albești, Vaslui
<b>6 V</b>	grâu	Grivița, Vaslui
<b>7 V</b>	legumifer	Grivița, Vaslui
<b>8 V</b>	floarea-soarelui	Grivița, Vaslui
<b>9 V</b>	porumb	Miclești, Vaslui
<b>10 N</b>	porumb	Dobreni, Neamț



Probele de sol au fost prelevate de la o adâncime cuprinsă între 0 și 15 cm în pungi de plastic și au fost ținute la rece până în momentul analizei. Tipurile de cultură de unde probele de sol au fost prelevate au fost cu preponderență culturi cerealiere (porumb și grâu). Probele au fost uscate la temperatura ambientală și supuse apoi procedurii de extracție și analiză.

### II.3.7 Rezultate

Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 10.

Tabel 10. Conținutul de pesticide triazinice în probele de sol analizate

<b>Cod Probă</b>	<b>Simazina (μg/kg)</b>	<b>Prometon (μg/kg)</b>	<b>Atrazina (μg/kg)</b>	<b>Ametrina (μg/kg)</b>	<b>Propazina (μg/kg)</b>	<b>Prometrin (μg/kg)</b>	<b>Terbutrin (μg/kg)</b>
<b>1C</b>	3.65	4.04	6.70	5.86	9.19	7.15	7.53
<b>2B</b>	5.86	0.81	nd	nd	nd	12.48	8.48
<b>3B</b>	4.40	nd	nd	nd	7.05	nd	2.83
<b>4S</b>	1.34	nd	nd	2.71	nd	nd	nd
<b>5V</b>	nd*	nd	nd	nd	nd	16.74	nd
<b>6V</b>	nd	nd	nd	nd	nd	9.42	nd
<b>7V</b>	nd	nd	nd	nd	nd	nd	2.30
<b>8V</b>	nd	nd	nd	nd	nd	4.33	nd
<b>9PN</b>	nd	nd	nd	nd	nd	25.94	nd
<b>10PN</b>	nd	nd	nd	nd	nd	44.80	nd

\* nd - sub limita de detecție

Rezultatele analizelor arată că principalii compuși detectați au fost simazina, prometrinul și terbutrinul cu concentrații cuprinse între 1.34-4.40 μg/kg, 7.15-44.80 μg/kg, respectiv 2.30-7.53 μg/kg. Prometrinul a fost detectat în 70% din probe, în timp ce simazina și terbutrinul au fost detectate în 40% din probe.

Conform legislației europene care specifică nivelul maxim de reziduuri în cazurile pesticidelor detectate a fi de 0.01 mg/kg în majoritatea probelor nu sunt înregistrate depășiri. În privința a patru probe limita de 10 ppb este depășită.

Se observă că, cele mai mari depășiri sunt înregistrate în cazul probelor de sol provenite de la culturile de porumb (1C - concentrația de pesticide totale, 2B, 9V, 10N). Acest aspect ar putea fi explicat prin faptul că pesticidele triazinice sunt aplicate în special la culturile de porumb.

### **II.3.8 Concluzii**

Metoda miniaturizată de extracție dezvoltată pentru analiza a șapte pesticide triazinice a fost aplicată cu succes la detectarea acestor agrochimicale în probe de sol. Limitele de cuantificare au fost cuprinse între 0.57 - 2.06  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , coeficientul de linearitate  $r^2 > 0.991$ , iar factorul de îmbogățire cu valori mai mari de 176.

DLLME-SFO poate fi o abordare rapidă și viabilă pentru extracția compușilor triazinici.

## **II.4 Studii privind incidența pesticidelor triazinice în produse alimentare - lapte neprocesat, miere de albine**

Datorită persistenței și mobilității pesticidelor în factorii de mediu acestea pot pătrunde cu ușurință în produsele alimentare reprezentând o sursă continuă de expunere a populației la aceste chimicale. Studiile din această lucrare sunt axate pe două produse alimentare foarte utilizate și anume mierea de albine, respectiv laptele de vacă. Pentru studii, compușii au fost izolați din matricile alimentare prin protocoale specifice optimizate și analizați prin cromatografie de lichide de înaltă performanță. Zonele de prelevare a probelor, precum și protocoalele de prelucrare a acestora sunt prezentate detaliat în continuare.

### **II.4.1 Incidența pesticidelor triazinice în miere**

Mierea este un produs alimentar extrem de folosit în societate. Datorită numeroaselor grupuri de substanțe pe care le conține, proprietățile benefice ale acesteia o transformă într-un produs important pe piața internă și internațională. Studii care au evaluat calitatea mierii au demonstrat contaminarea din surse agricole a acestui produs (Barganska et al., 2013; Panseri et al., 2014) cu diverse chimicale utilizate în acest domeniu. Studiul de față a vizat investigarea incidenței pesticidelor triazinice în mierea de albine prelevată din diverse zone ale țării cu activități agricole diferite. În tabelul 11 regăsim tipul de miere și anul producerii acesteia.

Tabel 11. Tipul de miere prelevat și anul de producere al acesteia

<b>Cod</b>	<b>Tip miere</b>	<b>Punct prelevare</b>	<b>Producție miere probă</b>
2 C	polifloră	Boju-Cătun, Cj	2012, iulie
3 C	salcâm	Boju-Cătun, Cj	2013, mai
4 T	rapiță	Topolog, TL	2013, mai
5 T	floarea- soarelui	Topolog, TL	2013, iunie
7 V	tei	Lipovăț, VS	2013, iunie
8 V	salcâm	Lipovăț, VS	2013, iunie
9 V	salcâm	Doagele, VS	2013 iulie
10 V	tei	Doagele, VS	2013, iulie
11 V	salcâm și tei	Bârlad, VS	2013, mai
12 V	tei	Pogana, VS	2013, iulie
13 V	polifloră	Trestiana, VS	2013, aug.
14 B	polifloră	Măgura Ilvei, BN	2013, sept.

#### II.4.2 Parte experimentală

##### *Reactivi și materiale*

Pentru analize s-a utilizat un amestec standard care conține șapte pesticide triazinice (simazina, prometon, atrazina, ametrina, propazina, prometrin și terbutrin) de puritate >98% a fost achiziționat de la Sigma-Aldrich. Acetonitrilul și metanolul (grad HPLC) au fost achiziționate de la Merck (Germania). Apa folosită pe parcursul analizelor a fost purificată cu un sistem Milli-Q-Plus (Millipore, S.U.A.).

Probele de miere au fost prelevate în recipiente sterilizate de polietilenă de 100 mL și păstrate la temperatura ambientală până la momentul analizelor.

### *Instrumentație și condiții cromatografice*

Condițiile cromatografice pentru acest tip de analiză au rămas la fel precum condițiile din cazul analizei probelor de sol. Așadar, sistemul HPLC, model Shimadzu, echipat cu o pompă tip 10 LC, detector UV/Vis 10 LSD și o valvă de injectare de 5 $\mu$ L a fost utilizat pentru analiza triazinelor din probele de miere. Pentru detecția pesticidelor utilizat o lungime de undă de 220 nm. Separarea analiților a fost efectuată pe o coloană pe fază inversă de tip Nova Pak C<sub>18</sub> (300 x 3,9 mm, 4 $\mu$ m). Eluția compușilor s-a făcut în mod izocratic cu un amestec de acetonitril: fosfat monopotasnic (25 mM) (40:60, v/v), la un debit de 1.2 mL/min.

### *Procedura de extracție SPE*

Izolarea și preconcentrarea compușilor triazinici din probele de miere s-a făcut prin extracție pe faza solidă (SPE) utilizând un cartuș de extracție C<sub>18</sub> EC (Phenomenex, S.U.A.). Pentru activarea fazei solide din cartuș, condiționarea a fost făcută în trei pași. S-au adăugat: ♦5 mL apă Milli-Q; ♦10 mL MeOH; ♦5 mL apă Milli-Q.

Pentru extracția pesticidelor din probele de miere s-a utilizat o procedură ușor modificată a lui Albero et al. (2004), după cum urmează: o probă de 10 g de miere au fost dizolvate în 40 mL apă Milli-Q și metanol (70:30, v/v) și supuse ultrasonării pentru 15 minute. Soluția obținută în urma dizolvării și centrifugării a fost trecută prin cartușul de extracție la un debit de 2 mL/min pentru reținerea pesticidelor. După ce întreaga probă a fost trecută prin cartuș, s-au adăugat din nou 5 mL apă Milli-Q pentru spălarea acestuia și îndepărtarea impurităților.

Compușii reținuți au fost eluați cu 3 mL metanol și colectați într-o eprubetă. Extractul obținut a fost supus evaporării până s-a ajuns la un volum de 0.5 mL și analizat prin cromatografie de înaltă performanță.

### **II.4.3 Validarea metodei SPE**

Deoarece metoda după care s-a făcut extracția a fost puțin modificată s-a impus un studiu al exactității prin evaluarea gradului de recuperare al analiților din probe contaminate. Pentru aceasta, 10 g de miere au fost contaminate cu 500 ng pesticide și apoi supuse procedurii de extracție și analiză descris anterior. Valorile gradelor de recuperare obținute pentru compușii luați în studiu sunt prezentate în tabelul 12.

Tabel 12. Gradele de recuperare în cazul mierii

Compus	Concentrație inițială (ng)	Cantitate adăugată (ng)	Cantitate regăsită (ng)	Grad de recuperare (%)
Simazina	-	500	446	89
Prometon	-	500	446	89
Atrazina	-	500	483	97
Ametrin	-	500	480	96
Propazina	-	500	437	87
Prometrin	-	500	439	88
Terbutrin	-	500	460	92

\* - valoarea medie a trei replicate

#### II.4.4 Rezultate analize probe de miere

Rezultatele analizelor efectuate pe probele de miere scot în evidență prezența acestor compuși în probele analizate. În figura 8, prezentăm cromatograma suprapusă a unei probe de miere (cod probă 9V) în care prezența triazinilor a fost detectată și cromatograma standardului triazinic.

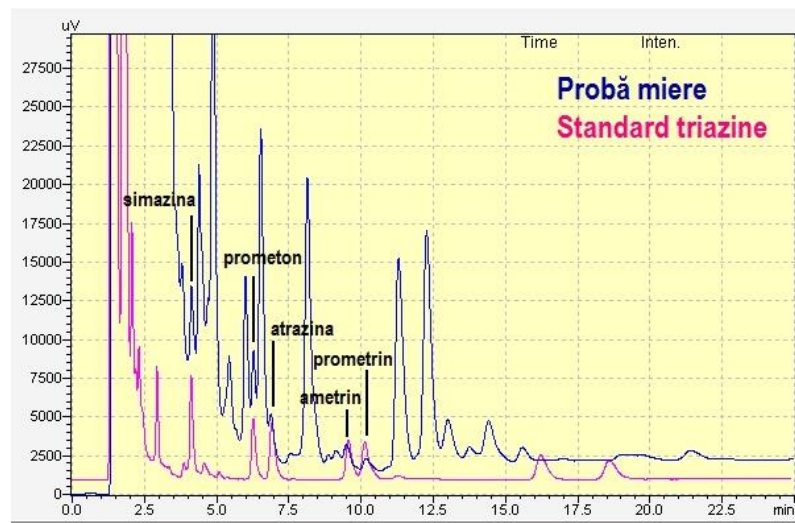


Fig. 8 Cromatograma triazinilor testate într-o probă de miere (cod probă 9V) și etalonul triazinilor ( $1\mu\text{g mL}^{-1}$ )

Rezultatele tuturor probelor analizate sunt prezentate în tabelul 13.

Tabel 13. Concentrațiile triazinelor în probele de miere analizate

Cod Probă	Simazina (µg/kg)	Prometon (µg/kg)	Atrazina (µg/kg)	Ametrin (µg/kg)	Propazina (µg/kg)	Prometrin (µg/kg)	Terbutrin (µg/kg)	Total (µg/kg)
2 C	nd	nd	1.19	nd	5.65	nd	nd	6.84
3 C	nd	nd	4.97	nd	nd	nd	nd	4.97
4 T	50.20	nd	nd	nd	nd	nd	nd	50.20
5 T	34.59	26.08	11.18	16.34	13.92	nd	nd	102.11
7 V	80.49	nd	nd	nd	nd	nd	34.58	115.07
8 V	58.56	54.96	nd	nd	nd	nd	nd	113.52
9 V	3.80	7.80	75.97	60.29	88.74	nd	15.00	251.6
10 V	116.05	31.66	nd	nd	20.04	nd	nd	167.75
11 V	82.05	17.15	nd	nd	4.78	nd	nd	103.98
12 V	32.73	nd	nd	nd	nd	nd	47.94	80.67
13 V	490.0	507.5	nd	nd	nd	nd	nd	997.5
14 B	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	-

\*nd- not detected

După cum reiese din tabelul anterior compușii predominanți sunt simazina, atrazina și prometonul având concentrații ce variază între 3.80 - 490.0 µg/kg. Din totalul probelor, simazina se regăsește într-un procent de 75%, prometonul este detectat într-un procent de 50%, iar atrazina în 33% din probele de miere.

În cazul triazinelor, Uniunea Europeană stabilește limita maximă admisă a reziduurilor în miere de 0.01 mg/kg. Se poate observa că majoritatea probelor depășesc această limită de 10 ppb. Acest aspect ar putea fi explicat prin faptul că probele care înregistrează depășiri provin din zona Moldovei (7V, 8V, 9V, 10V, 11V, 12V, 13V) și zona Dobrogei (4T, 5T) unde agricultura este modernă, intensivă, făcându-se uz de pesticide. Concentrațiile ridicate de triazine (8V, 9V, 11V) provin de la o miere de salcâm, iar înflorirea acestuia are loc în perioada (mai - iunie) în care pesticidele sunt aplicate pe culturi.

În zona Transilvaniei, concentrațiile triazinelor nu înregistrează depășiri, probele 2C și 3C având concentrații cuprinse între 4.97 și 6.84 µg/kg, iar în proba 14B compușii țintă nu au fost detectați.

#### **II.4.5 Concluzii**

Metoda propusă pentru extracția celor șapte compuși triazinici din probe de miere s-a dovedit a fi eficientă. Gradele de recuperare cuprinse între 87 - 97 % au fost satisfăcătoare. În zonele unde agricultura intensivă este practică, probele de miere depășesc nivelul de reziduuri maxim, în timp ce în zonele unde agricultura nu utilizează într-un mod la fel de agresiv pesticidele, concentrațiile de triazine nu înregistrează depășiri.

#### **II.5 Incidența pesticidelor triazinice în lapte**

Studiile privind reziduurile de pesticide din diferite matrici alimentare prezintă un interes major deoarece aceste agrochimicale pot contamina sursele de hrană, ulterior ajungând în corpul uman. Acest studiu cuprinde rezultatele analizelor de pesticide triazinice în probe de lapte de vacă neprocesat prelevat de la diverși producători din zona Județului Cluj.

Întrucât probele de alimente conțin o matrice destul de complexă ce include proteine, lipide, zaharuri și alți compuși cu structuri moleculare mari, extracția unor compuși în urme este adesea dificilă datorită înglobării compușilor de interes în structura matricii. Din această cauză probele de alimente cuprind, de regulă, etape suplimentare de eliminare a proteinelor, de extracție a grăsimilor, de purificare a extractelor, etape care au durată îndelungată și care pot duce la pierderi de analiți sau contaminări de extracte.

Studiul din această parte a lucrării cuprinde, pe lângă analizele propriu-zise de probe de lapte, și un studiu referitor la optimizarea unei metode de extracție a pesticidelor triazinice din lapte de vacă, metodă care are la baza metodologia QuEChERS.

##### ***II.5.1 Parte experimentală***

###### *Reactivi și materiale*

Reactivii și materialele utilizate în acest studiu sunt similare ca producători și puritate cu cele prezentate în studiile anterioare, respectiv amestecul de compuși triazinici, acetonitrilul, metanolul, NaCl,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , apă Milli-Q. În plus s-au mai utilizat hexanul și acetatul de etil de

producție Merck și trei materiale adsorbante: silicagel C18 EC, polimeric Strata X de proveniență Phenomenex și Fluorisil de proveniență Carlo Erba.

#### *Instrumentație și condiții cromatografice*

Analizele compușilor triazinici s-au făcut pe un sistem HPLC, model Shimadzu, echipat cu o pompă tip 10 LC, detector UV/Vis 10 LSD. Pentru detecția pesticidelor s-a ales o lungime de undă de 220 nm. Separarea analiților a fost efectuată pe o coloană cu fază inversă de tip Nova Pak C<sub>18</sub> (300 x3.9 mm, 4μm). În cazul centrifugării probelor, s-a folosit un sistem Eppendorf, model 5804 R (Austria). Eluția compușilor s-a făcut în mod izocratic cu un amestec de acetonitril: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (25 mM) (40:60, v/v), la un debit de 1.2 mL/min.

#### ***II.5.2 Optimizarea procedurii de extracție QuEChERS***

Metoda de extracție utilizată în acest studiu a fost adaptată după Li et al. (2013). În prima etapă s-au testat diferite tipuri de sorbenți: C18 EC, florisil și Strata X. Pentru aceasta diferite probe de lapte au fost contaminate cu 100 ng din fiecare pesticid și supuse procedurii de extracție după cum urmează:

Într-o eprubetă conică prevăzută cu dop cu filet s-au adăugat 0,3 g NaCl și 5 mL de lapte. Apoi, peste lapte s-a adăugat 8 mL solvent de extracție, compus din hexan și acetat de etil, (1:1, v/v). Amestecul s-a agitat viguros timp de 5 minute, apoi a fost supus centrifugării pentru o perioadă de 10 minute. După centrifugare, supernatantul ce conține faza organică și compușii de interes a fost transferat într-o altă eprubetă în care s-a adăugat un anumit tip de adsorbent (0,08 g) și supus din nou centrifugării timp de 5 minute la 4500 rpm. După sedimentarea adsorbentului, extractul a fost filtrat printr-un filtru de probe de porozitate 0,45 μm și supus evaporării la sec pe baie de apă. Reziduu rămas după evaporarea solventului a fost apoi reluat cu 100 μL metanol și injectat în sistemul HPLC.

Rezultatele referitoare la eficiența materialelor adsorbante utilizate sunt prezentate în figura 9.



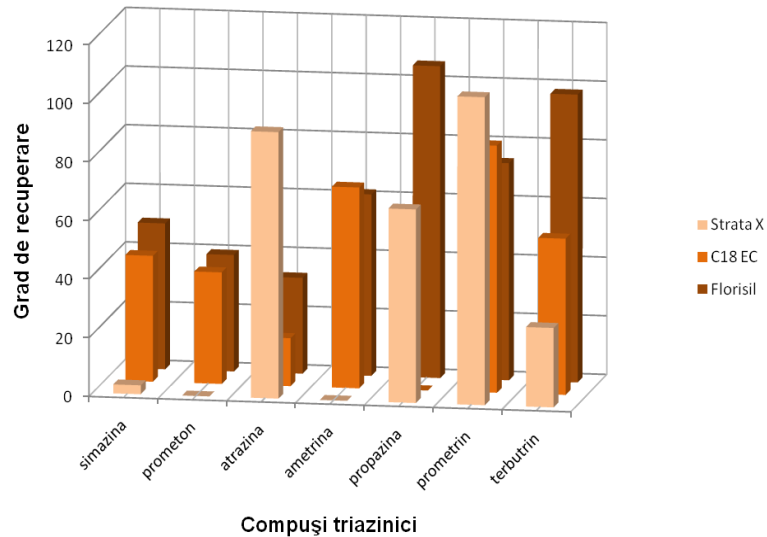


Fig. 9 Eficiența materialelor adsorbante testate

După cum reiese din figura anterioară cea mai bună eficiență o are fluorisilul, motiv pentru care va fi folosit în prelucrarea probelor de lapte.

### II.5.3 Rezultate analize probe de lapte

Laptele de vacă a fost prelevat direct de la producători (Tabel 14) în sticle de polietilenă de 500 mL și ținute la congelator până în momentul analizei. Pentru analiză, probele au fost dezghețate prin introducere în apă rece timp de 30 de minute, agitate pentru omogenizare și supuse procedeului de extracție. Procedura de extracție a probelor de lapte a fost următoarea:

Într-o eprubetă conică prevăzută cu dop cu filet s-au adăugat 5 mL de lapte și 0,3 g NaCl. S-au adăugat apoi 8 mL solvent de extracție și s-a agitat energic timp de 5 minute. După centrifugare, supernatantul ce conține faza organică și compușii de interes a fost transferat într-o altă eprubetă în care s-a adăugat 0,08 g Fluorisil și supus din nou centrifugării timp de 5 minute la 4500 rpm. Extractul a fost apoi filtrat prin filtru de probe, evaporat la sec, reluat cu 100  $\mu$ L metanol și injectat în sistemul HPLC.

Această metodă de prelucrare oferă un bun grad de purificare a extractului și o bună selectivitate pentru compușii de interes (Fig. 10)

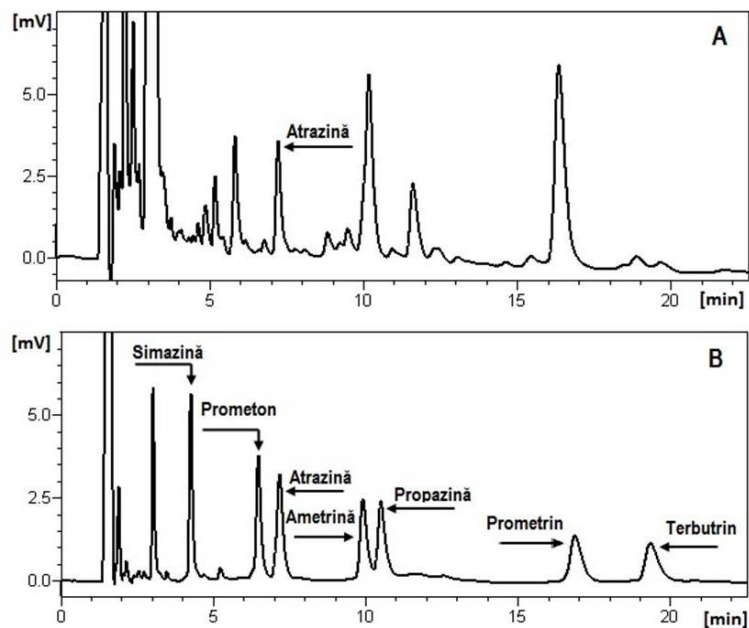


Fig. 10 Cromatograma unei probe de lapte (cod probă P9) extrasă prin metoda QuEChERS optimizată

Tabel 14. Proveniența probelor de lapte

Cod probă	Zona prelevare (sat, comuna, jud.)	Perioada colectare
P1	Boj-Cătun, Cojocna, Cj	19.07.2014
P2	Săndulești, Săndulești, Cj	19.07.2014
P3	Jucu de Sus, Jucu, Cj	17.07.2014
P4	Apahida, Apahida, Cj	17.07.2014
P5	Apahida, Apahida, Cj	17.07.2014
P6	Aruncuta, Suatu, Cj	18.07.2014
P7	Boj-Cătun, Cojocna, Cj	19.07.2014
P8	Ștrucuț, Ceanu Mare, Cj	19.07.2014
P9	Ștrucuț, Ceanu Mare, Cj	19.07.2014
P10	Fânațe, Ceanu Mare, Cj	19.07.2014

În tabelul 15 sunt prezentate rezultatele conținutului de pesticide triazinice din probele supuse analizei.

Tabel 15. Incidența erbicidelor triazinice în probele de lapte

Cod Probă	Simazina (µg/L)	Prometon (µg/L)	Atrazina (µg/L)	Ametrina (µg/L)	Propazina (µg/L)	Prometrin (µg/L)	Terbutrin (µg/L)	Total (µg/L)
P1	0.23	nd	1.91	4.13	nd	nd	6.47	12.74
P2	1.21	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1.21
P3	nd*	nd	1.92	4.32	nd	nd	4.93	11.17
P4	nd	nd	4.07	nd	nd	nd	nd	4.07
P5	nd	nd	19.46	nd	nd	nd	nd	19.46
P6	nd	nd	2.44	nd	nd	nd	nd	2.44
P7	2.10	1.23	nd	5.18	nd	nd	6.34	14.85
P8	nd	nd	4.58	nd	nd	nd	nd	4.58
P9	nd	nd	17.65	nd	nd	nd	nd	17.65
P10	nd	nd	11.68	nd	nd	nd	nd	11.68

\*nd - not detected

După cum reiese din tabelul anterior, compusul cel mai des detectat în probele de lapte este atrazina cu concentrații cuprinse între 1.91 - 19.46 µg/L, care se regăsește într-un procent de 80%. Următorii compuși detectați într-un procent de 30% sunt simazina, ametrina și terbutrinul. Prometonul este detectat doar în 10% din probe, în timp ce propazina și prometrinul nu sunt detectați.

Limita maximă de reziduuri în cazul laptelui stabilită de Uniunea Europeană este de 0.01 mg/L. Însă, în baza de date a Uniunii Europene legate de reziduurile de pesticide triazinice prezente în lapte, atrazina și simazina sunt singurii compuși ale căror MRLs (limite maxime de reziduuri) sunt reglementate, în pofida faptului că efectele negative asupra sănătății au fost semnalate în literatură și pentru ceilalți compuși (Moretti et al., 2002).

Concentrațiile regăsite depășesc limita impusă legislativ doar în cazul atrazinei (P5, P9, P10). Probele de lapte menționate provin din zone de pajiște care sunt repartizate crescătorilor de bovine. Prelevarea probelor de lapte s-a întreprins în apropierea perioadei de aplicare postemergentă a erbicidelor pe culturile de porumb. Prin urmare, aceste rezultate demonstrează mobilitatea compușilor țintă și circulația lor în lanțul trofic.

#### **II.5.4 Concluzii**

În acest studiu s-a optimizat o metodă rapidă și eficientă bazată pe metodologia QuEChERS care a fost aplicată pentru extracția a șapte erbicide triazinice în probe de lapte neprocesat. Majoritatea compușilor studiați au fost detectați în probele prelevate, cu excepția propazinei și prometrinului. Atrazina înregistrează depășiri ale limitei maxime admise, aspect care demonstrează influența transferului atmosferic și a depunerii în zone care nu sunt vizate de aplicarea erbicidelor.

### **III. Concluzii finale**

Compușii triazinici fac parte din marea clasă a pesticidelor, subclasa erbicidelor. În Uniunea Europeană, majoritatea reprezentanților acestei clase au fost interziși, însă terbutilazinul este aprobat până în anul 2021, în timp ce situația prometonului nu este specificată în cazul aprobării substanțelor active. Însă, compușii din clasa triazinelor fac parte din cea mai utilizată categorie de erbicide de pe continentul american și asiatic. Având în vedere toxicitatea acestor agrochimicale și mobilitatea lor în factorii de mediu, analizele privind incidența triazinelor atât în mediu, cât și în lanțul trofic asigură echilibrul ecosistemelor și siguranța alimentară.

Studiile științifice de pe întregul mapamond au detectat prezența pesticidelor triazinice în surse de apă (de suprafață și subterane), în diferite tipuri de sol, în varii legume și alimente. Aceste contaminări pot produce dezechilibre ale ecosistemelor, efecte care ulterior prezintă mari dificultăți de remediere. În ceea ce privește sănătatea omului, studiile toxicologice arată că triazinele pot acționa ca și perturbatori endocrini, pot cauza probleme la nivelul sistemului reproducător și pot cauza probleme de dezvoltare.

În acest context, lucrarea de față a urmărit incidența a șapte pesticide triazinice (atrazina, simazina, prometrina, prometon, ametrin, terbutrin și propazina) în factorii majori de mediu, precum apa, atât de suprafață, cât și subterană, solul, dar și incidența acestora în probe de lapte de bovină neprocesat și probe de miere colectate direct de la producători din diferite zone ale țării.

Cuantificarea pesticidelor s-a făcut prin cromatografie de lichide de înaltă performanță cuplată cu detector UV/Vis. Optimizarea metodei de analiză a constat în investigarea unor tipuri diferite de coloane cromatografice și varii faze mobile. Datele experimentale au demonstrat că, cele mai bune rezultate se obțin cu ajutorul coloanei NovaPak C18 (30 cm x 3.9 mm, 4 μm), detecția corespunzătoare la lungimea de undă de 220 nm, iar fază mobilă fiind un amestec de acetonitril:tampon fosfat (60:40, v/v). Pentru validarea metodei de analiză s-au luat în studiu parametri precum: repetabilitatea, linearitatea, limita de detecție (LOD), limita de cuantificare (LOQ). Metoda validată a redat o repetabilitate și o linearitate bună, cu limite de detecție și cuantificare de ordinul μg/L, așadar îndeplinind cerințele de validare.

În ceea ce privește apele de fântână, datele experimentale au demonstrat prezența erbicidelor triazinice în probele prelevate cu concentrații cuprinse între 3.07-8.07 μg L<sup>-1</sup>. Conform Directivei 98/83/CE privind calitatea apei pentru consumul uman, concentrațiile înregistrate depășesc limita maximă admisă. Comunitățile din mediul rural care consumă aceste ape pe o perioadă îndelungată ar putea fi expuse anumitor riscuri, așadar modernizarea surselor de apă potabilă reprezintă o acțiune care se impune în mod imperios.

În cazul apelor de suprafață prelevate din bazinul Someșului Mic și bazinul superior al Tisei, probele investigate au relevat prezența triazinelor doar în bazinul Someșului Mic, concentrațiile situându-se între 0.08 - 5.29 μg/L. Conform Directivei 2013/39/UE, unde se menționează concentrația maximă admisă pentru atrazina, simazină și terbutrin (2 μg/L, 4μg/L, respectiv 0.34 μg/L), concentrațiile detectate nu depășesc acest prag, cu excepția atrazinei la confluența Someșului Mic cu Someșul Mare, unde s-a înregistrat o concentrație de 5.29 μg/L. Deoarece în punctul de prelevare (Dej vărsare) aportul hidrografic este semnificativ, acesta atrage după sine reziduurile de pesticide colectate de pe afluenți, astfel încât prezența agrochimicalelor în punctul menționat mai sus nu este surprinzătoare.

Pentru a detecta incidența triazinelor în probele de sol a fost elaborată o metodă modernă și rapidă de extracție. Factori precum, aditia de sare, pH-ul și tipul solventului de extracție au fost supuși optimizării, astfel încât eficiența să aibă un nivel corespunzător. Parametrii de validare investigați (exactitatea, repetabilitatea, linearitatea, limita de detecție și limita de cuantificare) au redat valori adecvate, demonstrând eficiența și fiabilitatea metodei. Microextracția dispersivă lichid-lichid bazată pe solidificarea picăturii organice (DLLME-SFO) a redat o linearitate bună cu un coeficient de corelație cuprins între 0.992 și 0.999 și factori de îmbogățire cuprinși între

176 și 247. Solul investigat relevă prezența triazinelor în toate probele analizate, însă majoritatea nu înregistrează depășiri ale pragului impus de U.E de 0.01 mg/kg, cu excepția a patru probe. Aplicarea triazinelor se face cu preponderență pe culturile de porumb, iar dacă se observă proveniența probelor unde se înregistrează depășiri, se confirmă faptul că există o dependență între concentrațiile ridicate și tipul de cultură.

În cazul probelor de miere, extracția acestora s-a întreprins prin SPE. Metoda elaborată a fost supusă validării, unde gradele de recuperare sunt peste 80% ceea ce denotă o recuperare satisfăcătoare a analiților. Rezultatele probelor de miere analizate au demonstrat că în zonele unde agricultura intensivă este prevalentă - în cazul acestei lucrări, Moldova și Dobrogea - concentrațiile triazinelor sunt cele mai ridicate (50.2 - 997.54  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) și înregistrează depășiri ale pragului admis de 0.01 mg/kg, iar în zonele unde se practică o agricultură tradițională sau care utilizează o cantitate mai redusă de pesticide, concentrațiile triazinelor nu depășesc limita maximă admisă ulterior menționată.

În privința probelor de lapte, o metodă modernă de extracție care are la bază conceptul QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) a fost optimizată. Au fost testate trei tipuri diferite de sorbenți, flourisilul fiind utilizat pe parcursul prelucrării probelor de lapte. Datele experimentale relevă prezența triazinelor totale cu concentrații cuprinse între 2.44 și 19.46  $\mu\text{g}/\text{L}$ . Singurele depășiri ale limitei maxime admise de reziduuri se înregistrează în trei probe de lapte în cazul atrazinei. Aceste probe provin din zone de pajiște, iar colectarea acestora a coincis cu perioada de aplicare postemergentă a erbicidelor pe culturi. Rezultatele demonstrează capacitatea compușilor triazinici de a circula în factorii de mediu și de a influența lanțul trofic.

Studiile prezente în această lucrare ar putea sta la baza unor studii viitoare pentru a investiga expunerea comunităților rurale din zonele sensibile, unde rețelele centralizate de apă potabilă încă nu sunt existente, iar consumul zilnic de apă din punctele unde prezența pesticidelor triazinice a fost detectată pe termen lung, poate duce la varii efecte cronice. De asemenea, lipsa de informare a agricultorilor în ceea ce privește aplicarea corectă a pesticidelor, crește riscul de a detecta compușii triazinici și în alte matrici, precum legumele. Prin urmare, investigarea concentrațiilor a acestor substanțe în diferite legume susceptibile contaminării, precum roșiile sau cartoful, ar putea sta la baza altor studii.

## Articole științifice ISI și BDI

1. Assessment of triazine herbicides content in honey samples by solid-phase extraction and HPLC analysis, Andreea Drăguș, Mihail Simion Beldean-Galea, Lucrare acceptată spre publicare în Universitatis Babeș-Bolyai Seria Chemia, Impact Factor = 0.136;
2. Determination of triazine herbicides in soil samples by ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet followed by high performance liquid chromatography analysis, Andreea Drăguș, Mihail Simion Beldean-Galea, Virginia Coman, Lucrare acceptată spre publicare în Revue Roumaine de Chimie, IF = 0.418;
3. Assessing Impacts of Triazine Pesticides Use In Agriculture Over the Well Water Quality, Andreea Dragus, Mihail Simion Beldean-Galea, Radu Mihaiescu, Tania Mihaiescu, Dumitru Ristoiu, Lucrare publicată în Environmental Engineering and Management Journal, Februarie 2012, Vol. 11, Nr. 2, pp. 319-323, ISSN: 1582-9596, Impact Factor = 1.435;
4. Metode de analiză a unor pesticide și cuantificarea acestora în probe de apă Andreea-Bianca Drăguș, Lucrare publicată în volumul de lucrări din cadrul workshop-ului: „*Tendențe și cerințe de interdisciplinaritate în cercetare. Prezentarea rezultatelor obținute de doctoranzi*”, 25 Ian 2013, Editura POLITEHNIUM IAȘI ISBN 978-973-621-408-0;
5. Pesticides in the environment and human health, Andreea-Bianca Dragus, Dumitru Ristoiu, Lucrare publicată în Ecoterra- Journal of Environmental Research and Protection, 2012, nr. 31, pp. 44-47, Jurnal indexat BDI; cu ISSN 1584-7071.

## Participări conferințe

1. *Assesment of triazine pesticides content in honey samples by solid phase extraction and HPLC analysis*, Andreea Drăguș, Mihail Simion Beldean-Galea, Dumitru Ristoiu, the 10th ELSEDIMIA International Conference, 18-19 Sept. 2014, Cluj-Napoca, România;
2. *Triazine herbicides and their assesment on well waters*, Andreea Drăguș, Mihail Simion Beldean-Galea, Radu Mihaiescu, Tania Mihaiescu, Dumitru Ristoiu, 9th Edition of the ELSEDIMIA International Conference, 25-27 Oct. 2012, Cluj-Napoca, România
3. *Impact evaluation of triazine pesticides used in agriculture over the well water quality*, Andreea Drăguș, Mihail Simion Beldean-Galea, Radu Mihăiescu, Tania Mihăiescu, Dumitru Ristoiu, 6th International Conference Environmental Engineering and Management, Balaton, 1-4 Sept. 2011, Ungaria;
4. *Pesticides in the environment and human health*, Andreea-Bianca Drăguș, Dumitru Ristoiu, ENVIRONMENT&PROGRESS, Environment – Research, Protection and Management, 11 Noiembrie, 2011, Cluj-Napoca, România;
5. *The Impact of the Herbicide Glyphosate: A review*, Andreea Drăguș, Dumitru Ristoiu, National Symposium Environment & Progress, 25 Oct., 2013, Cluj-Napoca, România;
6. *Influența agriculturii asupra calității apei*, Andreea-Bianca Drăguș, Mihail Simion Beldean-Galea, Carmen Roba, Dumitru Ristoiu, Ecouniversitaria, 20-22 Mai, 2011, Bistrița-Năsăud, România.



## Bibliografie selectivă

1. Accinelli, C., Dinelli, G., Vicari, A., Catizone, P., 2001, *Atrazine and metachlor degradation in subsoils*, *Biology and Fertility of Soils* 33:495-500
2. Ackerman, F., 2007, *The Economics of Atrazine*, *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 13:441–449
3. Barganska, Z., Slebioda, M., Namiesnik, J., 2013, *Pesticide residues levels in honey from apiaries located in Northern Poland*, *Food Control*, Vol. 31, pp. 196-201.
4. Bottoni, P., Grenni, P., Lucentini, L., Barra Caracciolo, A., 2013, *Terbutylazine and other triazines in Italian water resources*, *Microchemical Journal* 107, pp. 136-142.
5. Boyd, R., 2000, *Herbicides and herbicide degradates in shallow groundwater and the Cedar River near a municipal well field, Cedar Rapids, Iowa*, *Science of the Total Environment*, Vol. 248, pp. 241-253
6. Burnside, O., 1996, *Biologic and economic assessment of benefits from use of phenoxy herbicides in the United States*, *National Agricultural Pesticide Impact Assessment Program*
7. Dagnac, T., Bristeau, S., Jeannot, R., Mouvet, C., Baran, N., 2005, *Determination of chloro-acetanilides, triazines and phenylureas and some of their metabolites in soils by pressurised liquid extraction, GC–MS/MS, LC–MS and LC–MS/MS*, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1067, Issue 1-2, pp. 225-233.
8. Directiva 2013/39/UE, de modificare a Directivelor 2000/60/CE și 2008/105/CE în ceea ce privește substanțele prioritare din domeniul politicii apei, publicată în Jurnalul Oficial al Uniunii Europene nr. 226 din 25.8.2013.
9. Directiva nr. 83/98/CE, privind calitatea apei destinată consumului uman, Publicată în Jurnalul Oficial al Comunității Europene nr. 330 din 05/12/1998.
10. Donna, A., Crosignani, P., Robutti, F., Betta, P.G., Bocca, R., Mariani, N., Ferrario, F., Fissi, R., Berrino, F., 1989, *Triazine herbicides and ovarian epithelial neoplasms*, *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 15, pp. 47-53
11. Drăguș, A., Beldean-Galea, M.S., 2015a, *Assessment of triazine herbicides content in honey samples by solid-phase extraction and HPLC analysis*, *Universitatis Babeș-Bolyai Seria Chemia*.

12. Drăguș, A., Beldean-Galea, M.S., Mihăiescu, R., Mihăiescu, T., 2012b, *Assesing Impacts of Triazine Pesticides Use In Agriculture Over the Well Water Quality*, Environmental Engineering and Management Journal, Vol. 11, No. 2, pp. 319-323.
13. Drăguș, A.B., Ristoiu, D., 2012a, *Pesticides in the environment and human health*, Ecoterra - Journal of Environmental Research & Protection, no. 31, pp. 44-47.
14. Du Prez, L.H., Jansen van Rensburg, P.J., Jooste, A.M., Carr, J.A., Giesy, J.P., Gross, T.S., Kendall, R.J., Smith, E.E., Van Der Kraak, G., Solomon, K.R., 2005, *Seasonal exposures to triazine and other pesticides in surface waters in the western Highveld corn-production region in South Africa*, Environmental Pollution, Vol. 135, Issue 1, pp. 131-141.
15. Funari, E., Barbieri, L., Bottoni, P., Del Carlo, G., Forti, S., Giuliano, G., Marinelli, A., Santini, C., Zavatti, A., 1998, *Comparison of the leaching properties of alachlor, metolachlor, triazines and some of their metabolites in an experimental field*, Chemosphere, Vol. 36, Issue 8, pp. 1759-1773.
16. Gfrerer, M., Martens, D., Gawlik, B.M., Wenzl, T., Zhang, A., Quan, X., Sun, C., Chen, J., Platzer, B., Lankmayr, E., Kettrup, A., 2002, *Triazines in the aquatic systems of the Eastern Chinese Rivers Liao-He and Yangtse*, Chemosphere, Vol. 47, Issue 4, pp.455-466.
17. Gilbert, G. Stephen, *A small dose of toxicology. The health effects of common chemicals*, 2nd Edition, Health World Press, 2012.
18. Kettles, M.A., Broning, S.R., Prince, T.S., Horstman, S.W., 1997, *Triazine herbicide exposure and breast cancer incidence: An ecological study of Kentucky counties*, Environmental Health Perspectives, 105, pp. 1222-1227
19. Koskinen, C. William, Banks, Philip, A., 2008, *The triazine herbicides*, Elsevier, pp: 355-385.
20. LeBaron, H.M., *Single Pesticide Volume: The Triazine Herbicides*, Volume 32, Springer New York, 1970, Pages 311-353.
21. Li, Ke-Bin, Cheng, Jing-Tao, Wang, Xiao-Fang, Zhou, Ying, Liu, Wei-Ping, 2008, *Degradation of herbicides atrazine and bentazone applied alone and in combination in soils*, Pedosphere 18 (2): 265-272.

22. Mast, M.A., Foreman, W.T., Skaates, S.V., 2007, *Current-use pesticides and organochlorine compounds in precipitation and lake sediment from two high-elevation national parks in the Western United States*, Archives of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 53, Issue 3, pp. 294-305
23. Moretti, M., Marcarelli, M., Villarini, M., Fatigoni, C., Scassellati-Sforzolini, G., Pasquini, R., 2002, *In vitro testing for genotoxicity of the herbicide terbutryn: cytogenetic and primary DNA damage*, Toxicology in Vitro, v. 16, p. 81-88.
24. Nakamura, S., Daishima, S., 2005, *Simultaneous determination of 64 pesticides in river water by stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry*, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 382: 99-107.
25. Panseri, S., Catalano, A., Giorgi, A., Arioli, F., Procopio, A., Britti, D., Chiesa, L.M., 2014, *Occurrence of pesticide residues in Italian honey from different areas in relation to its potential contamination sources*, Food Control, Vol. 38, pp. 150-156.
26. Prado, B., Duwing, C., Hidalgo, C., Muller, K., Mora, L., Raymundo, E., Etchevers, J.D., 2014, *Transport, sorption and degradation of atrazine in two clay soils from Mexico: Andosol and Vertisol*, Geoderma, Vol. 232-234, pp. 628-639
27. Quednow, K., Puttmann, W., 2007, *Monitoring terbutryn pollution in small rivers of Hesse, Germany*, Journal of Environmental Monitoring, Vol. 9, Issue 12, pp. 1337-43
28. REPORT EH08-01, 2008: *Sampling for pesticide residues in California well water*, 2007 Update of the Well Inventory Database, C. Nordmark, J. Dias, M. Clayton, J. Troiano, M. Pepple.
29. Shah, J., Jan, M.R., Ara, B., Shehzad, F.N., 2011, *Quantification of triazine herbicides in soil by microwave-assisted extraction and high-performance liquid chromatography*, Environmental Monitoring and Assessment, 178: 111-119.
30. Wang, D.-Q., Yu, Y.-X., Zhang, X.-Y., Zhang, S.-H., Pang, Y.-P., Zhang, X.-L., Yu, Z.-Q., Wu, M.-H., Fu, J.-M., 2012, *Polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in fish from Taihu Lake: Their levels, sources, and biomagnification*, Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol. 82, pp. 63-70.