

## Oznaczenie wybranych ksenoestrogenów w wodzie i ściekach

Determination of the selected xenoestrogens in water and wastewater

Małgorzata Gałamon\*, Ewa Liwarska - Bizukojć

Wydział Budownictwa, Architektury i Inżynierii Środowiska, Politechnika Łódzka

---

### Abstrakt

Intensywny rozwój przemysłu chemicznego oraz znaczne rozpropagowanie leków opartych na estrogenach skutkują uwalnianiem do środowiska znacznych ilości substancji chemicznych, w tym ksenoestrogenów. Ksenoestrogeny definiowane są jako egzogenne związki chemiczne, mogące oddziaływać z receptorami estrogenowymi i działać jako agoniści lub antagoniści endogennych hormonów. Obecność ksenoestrogenów w środowisku wymusza opracowanie skutecznej metody ich monitoringu. W pracy przedstawiono sposoby oznaczenia wybranych ksenoestrogenów. Opracowanie procedur analitycznych umożliwiających rozdział i oznaczenie ilościowe ksenoestrogenów jest bardzo istotne, zarówno dla bezpieczeństwa ludzi, jak i środowiska przyrodniczego. Scharakteryzowano zarówno dotychczasowe techniki używane do ekstrakcji, jak i techniki oznaczania niektórych ksenoestrogenów. Przedstawiono trudności analityczne występujące przy przygotowaniu próbek do analizy, spowodowane różnicowanymi właściwościami fizykochemicznymi. Właściwe przygotowanie próbek do analizy oraz końcowe oznaczenie izolowanych związków to dwa istotne etapy w każdej procedurze analitycznej. Błędy popełnione na pewnych etapach badań, mogą doprowadzić do niewłaściwych wyników oraz mylnych informacji, dotyczących badanego materiału.

### Abstract

The dynamic development of the chemical industry and the considerable spread of estrogen-based medicines result in the release of significant amounts of chemicals into the environment, including xenoestrogens. Xenoestrogens are exogenous chemicals that can interact with estrogen receptors and act as agonists or antagonists of endogenous hormones. The xenoestrogens include phytoestrogens, metaloestrogens, pesticides, alkylphenols, parabens and UV filters. Numerous contaminants are supplied to the water tanks. Drinking water monitoring is to ensure high quality of water supply and to ensure the safety of the residents, as the purity of drinking water has a direct impact on human health. The presence of xenoestrogens in the environment forces the development of an effective method for their monitoring. The paper presents methods of determining selected xenoestrogens. The development of analytical procedures in various fields and the quantification of xenoestrogens is very important for the safety of humans and the natural environment. Both the techniques used for extraction and the technique of marking certain xenoestrogens have been characterized. Mistakes made at certain stages of research can lead to incorrect results and misleading information about the test material.

*Słowa kluczowe:* mikrozanieczyszczenia, środowisko, woda, ścieki, diklofenak, pestycydy, ksenoestrogeny;

*Keywords:* micropollutants, environment, water, wastewater, diclofenac, pesticides, xenoestrogens;

---

## 1. Wstęp

Ksenoestrogeny to związki chemiczne, które wykazują zdolność interakcji z układem hormonalnym i modulowania jego czynności. Związki te nie mają jednolitej struktury chemicznej. Do tej grupy zalicza się związki alifatyczne oraz związki aromatyczne, niektóre z

---

\* autor korespondencyjny: Małgorzata Gałamon: gosia\_klink@o2.pl

nich zawierają w strukturze metale ciężkie lub fluorowce. Przynależność poszczególnych związków do ksenoestrogenów determinowana jest nie przez strukturę chemiczną, ale przez sposób działania na organizmy żywe [1]. Do ksenoestrogenów zalicza się: fitoestrogeny, metaloestrogeny, pestycydy, alkilofenole, parabeny oraz filtry UV. Substancje te znajdują się w produktach spożywczych, zanieczyszczonym powietrzu, glebie i wodzie, dymie papierosowym, detergentach, kosmetykach, materiałach kompozytowych wykorzystywanych w stomatologii, produktach przemysłowych, takich jak: farby, lakiery, plastikowe pojemniki, w środkach stosowanych w rolnictwie (środki ochrony roślin, dodatki do pasz) oraz produktach roślinnych (nasiona soi i ciecierzycy) [2]. Do zbiorników wodnych dostarczane są liczne zanieczyszczenia. Monitoring wód przeznaczonych do picia ma na celu zapewnić wysoką jakość wody, która ma wpływ na zdrowie człowieka. Przywołać można w tym miejscu Dyrektywę 2000/60/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 października 2000 roku, ustanawiającą ramy wspólnotowego działania w dziedzinie polityki wodnej [3]. Ramowa Dyrektywa Wodna mówi: „...woda nie jest produktem handlowym takim jak każdy inny, ale raczej dziedzicznym dobrem, które musi być chronione, bronione i traktowane, jako takie...”. Jednym z celów RDW jest poprawa jakości wód i stanu ekosystemów zdegradowanych działalnością człowieka oraz zmniejszenie zanieczyszczenia wód podziemnych [3]. Usuwanie substancji szkodliwych ze ścieków, lub z wód powierzchniowych jest zabiegiem dość trudnym. W literaturze przedmiotu istnieją normy, które regulują oznaczanie niektórych ksenoestrogenów np.: PN-EN ISO 18857-2:2012 - „Jakość wody - Oznaczanie wybranych alkilofenoli - Część 2: Oznaczanie alkilofenoli, ich etoksylatów i bisfenolu A metodą chromatografii gazowej ze spektrometrią mas w próbkach niefiltrowanych po ekstrakcji do fazy stałej i derywatywacji”, czy też PN-EN ISO 17993:2005 – wersja polska „Jakość wody - Oznaczanie 15 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w wodzie metodą HPLC z detekcją fluorescencyjną po ekstrakcji ciecz-ciecz”.

## 2. Techniki i procedury analityczne oznaczania ksenoestrogenów

Celem niniejszego artykułu jest przegląd opracowanych technik i procedur analitycznych, które umożliwiają oznaczanie wybranych ksenoestrogenów przede wszystkim w próbkach środowiskowych. W przeglądzie uwzględniono tylko niektóre substancje z bardzo szerokiej grupy ksenoestrogenów, a mianowicie: wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), diklofenak, 17 $\alpha$ -etynyloestradiol, 4-nonylofenol, pestycydy. W Tabeli 1 zebrano metody oznaczania stosowane dla wybranych mikrozanieczyszczeń, część z nich będzie

przedmiotem analizy w dalszej części artykułu. Tabela 1 pokazuje jak szeroki wachlarz metod może być stosowany w analizie ilościowej mikrozanieczyszczeń.

**Tabela 1.** Dane literaturowe dotyczące technik przygotowania i oznaczeń końcowych wybranych próbek środowiskowych

Analizowane związki chemiczne	Zastosowane techniki	Metody oznaczania	Źródła
Fitoestrogeny: genisteina, kumestrol, daidzeina	SPE	GC-MS	[4]
Fenole: 4 tetra-oktylofenol, 4 nonylofenol, bisfenol	ekstrakcja z wykorzystaniem ruchomego elementu sorpcyjnego SBSE	GC-MS	[4]
Chlorofenole: dichlorofenol, pentachlorofenol	LLE	GC-MS	[4]
Chloramfenikol	SPE	GC-MS HPLC-MS/MS	[5]
Diazepam	SPE	GC-MS HPLC-MS/MS	[5]
Diklofenak	LLE SPE	GC-MS GC-MS/MS HPLC-CE-MS HPLC-MS HPLC ESI-MS	[5]
Erytromycyny	SPE	HPLC-MS	[5]
17 $\alpha$ -etynyloestradiol	SPE SPME LLE Metoda QuEChERS	HPLC-UV HPLC-MS GC-MS	[5] [6]
Karbamazepina	SPE	HPLC GC-MS	[5]
Sulfonamidy	SPE	HPLC-MS	[5]
Trymetoprym	SPE LLE	HPLC APCI-MS	[5]
Pestycydy	SPE (dSPE, MSPD) MASE/ HF-LPME Metoda QuEChERS Metoda CHEMAC Technika STEMIT/ LLE (USE, PLE, SFE)	GC-ECD GC-NPD GC-MS SEC (GPC) HPLC-MS MEKC Metoda ELISA HPLC-UV/DAD	[7] [8] [9]
WWA	SPE LLE Ekstrakcja w aparacie Soxhleta	HPLC-UV/DAD HPLC-FL GC-MS Metoda ELISA	[7]
Metaloesrogeny: kadm, miedź, kobalt, nikiel, ołów, rtęć, cyna, chrom, glin	-	ASA Spektrofotometr UV-VIS ICP-OES ICP-MS	[10]

Z danych literaturowych wynika, że skutecznymi technikami oznaczania mikrozanieczyszczeń w próbkach środowiskowych są chromatografia gazowa i cieczowa sprzężone z podwójnym detektorem mas (GC/MS/MS, LC/MS/MS), które umożliwiają równoczesny rozdział i analizę kilkudziesięciu związków chemicznych występujących w wodzie lub ściekach w bardzo niskich stężeniach. Chromatografia gazowa z pojedynczym detektorem mas GC/MS jest jednak wciąż często stosowaną metodą ze względu na dostępność tej aparatury w wielu laboratoriach analitycznych. Przed oznaczeniem ksenoestrogenów bardzo ważny jest również proces zatężania analitu, jak i oczyszczania próbki z matrycy, proces ten prowadzony jest najczęściej na drodze ekstrakcji w układzie: ciecz – ciecz (LLE – z ang. *Liquid Liquid Extraction*), mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME – z ang. *Solid Phase MicroExtraction*) oraz ekstrakcji do fazy stałej (SPE – z ang. *Solid Phase Extraction*) [11].

## 2.1. WWA

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) to związki chemiczne, które zawierają od dwóch do kilkunastu pierścieni aromatycznych w cząsteczce. Należą do nich różne substancje m.in.: antracen, benzo(a)antracen, benzo(a)piren. Związki te gromadzą się w osadach dennych, gdzie w warunkach beztlenowych ich rozkład jest dodatkowo spowolniony. WWA są obecne również w wodach podziemnych, do których przenikają przez mało zwarte warstwy filtracyjne gruntu, zanieczyszczając w ten sposób źródła wody pitnej. Oznaczenie WWA w próbkach środowiskowych jest trudne i czasochłonne. Izolacja WWA z próbek wody i ścieków może być wykonana poprzez ekstrakcje: ciecz-ciecz, do fazy stałej, płynem w stanie nadkrytycznym, czy też z wykorzystaniem membran półprzepuszczalnych. Natomiast, jeżeli mamy próbki gleby, stosuje się ekstrakcję rozpuszczalnikiem (benzen, toluen, heksan lub mieszaninę heksan – aceton). W próbkach powietrza przeprowadza się adsorpcję na odpowiednim filtrze, a następnie ekstrakcję rozpuszczalnikiem. W końcowym etapie analizę najczęściej wykonuje się z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC [12, 13]. Natomiast oznaczenie śladowych ilości analitów w złożonych matrycach na ogół zawiera dwa etapy: ekstrakcję analitów lub ekstrakcję z matrycy, a potem oczyszczanie. Pierwszy etap ma na celu selektywną izolację analitów z jednoczesnym uproszczeniem matrycy. Najczęściej wykorzystywana jest ekstrakcja ciecz-ciecz, adsorpcja-desorpcja, hydroliza (np. zmydlanie) i precypitacja. WWA oznaczać można techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej w układzie faz odwróconych (RP-HPLC) [14].

Należy wspomnieć tutaj również o normie PN-EN ISO 17993:2005 – „Jakość wody - oznaczanie 15 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w wodzie metodą HPLC z detekcją fluorescencyjną po ekstrakcji ciecz-ciecz”, która reguluje oznaczanie WWA, co jest bardzo istotne dla laboratoriów akredytowanych. Metodę tą stosuje się do oznaczania 15 wybranych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w wodzie przeznaczonej do spożycia, wodzie podziemnej w stężeniach powyżej 0,005 µg/l oraz w wodach powierzchniowych w stężeniach powyżej 0,01 µg/l z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detekcją fluorescencyjną po ekstrakcji ciecz-ciecz. Metoda ta, po pewnych modyfikacjach, może być stosowana również do analizy ścieków w zakresie stężeń od 0,3 mg/l do 1000 mg/l.

## 2.2. Diklofenak

Diklofenak to pochodna kwasu aminofenyl-octowego, należy do grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) o działaniu przeciwzapalnym, przeciwbólowym i przeciwgorączkowym. W produktach handlowych występuje często w postaci soli sodowej lub potasowej. W 2004 roku diklofenak został wykryty w rzekach i jeziorach północnej Polski w stężeniu 0,300 – 0,528 µg/l (Uniwersytet Gdański) [15]. W 2008r. opublikowano wyniki badań o obecności popularnych grup leków w wodach rzeki Warty oraz ściekach komunalnych z trzech różnych źródeł [16]. W literaturze można spotkać najczęściej dwie metody oznaczania diklofenaku w wodzie i ściekach, które scharakteryzowane zostały poniżej:

1. Próbkę badaną przefiltrowano na filtrze z włókna szklanego MN GF-1 ( $\varnothing = 45$  mm) następnie zakwaszono kwasem solnym do pH = 2,5. Próbkę ścieków o objętości 1000 ml zatężono na drodze ekstrakcji do fazy stałej do objętości 100 µl [15]. Istotnym warunkiem w chromatografii gazowej jest wprowadzenie na kolumnę chromatograficzną składników mieszaniny w postaci lotnej i trwałej w wysokich temperaturach. Diklofenak jest substancją nielotną, dlatego konieczny jest proces derywatyzacji. Najczęściej stosowaną metodą derywatyzacji jest metylacja lub silylacja. W tym celu autor zastosował związek silylowy N-metyl-N-trimetylsilil trifluoroacetamid (MSTFA). Rozdział składników próbki i analizę ilościową diklofenaku w ściekach wykonano w systemie GC/MS [11].
2. Badany farmaceutyk został wydzielony z użyciem ekstrakcji do fazy stałej (SPE) w kolumnkach, które wypełnione były złożem oktylosilanowym (C8). Takie złożo przed ekstrakcją zostało przemyte metanolem oraz kondycjonowane wodą zdejonizowaną o pH równym 7. Ekstrakt eluowano metanolem i poddano osuszaniu pod strumieniem azotu.

Następnie poddano upochodnieniu czynnikiem silylującym - MSTFA. Otrzymano pochodne trimetylosililowe (TMS). Końcowym etapem było oznaczenie badanej próbki na chromatografii gazowej sprzężonej z detektorem masowym (GC-MS - EI). Ta metoda umożliwia oznaczenie badanego analitu w próbkach wody o objętości 20 cm<sup>3</sup> [17].

### 2.3. 17- $\alpha$ -etynyloestradiol

Estrogeny wraz z gestagenami stanowią żeńskie hormony płciowe, które między innymi zapewniają prawidłowy rozwój i funkcjonowanie narządów rodnych [18]. Aktualnie obserwuje się wzrost stężeń w środowisku ich syntetycznych odpowiedników (17 $\alpha$ -etynyloestradiolu - EE2, dietylostilbestrolu – DES, czy mestranolu - MES) [19]. W ostatnich latach badania, które były wykonane, wykazały występowanie śladowych ilości hormonów estrogenowych: w ściekach, wodach powierzchniowych, wodzie gruntowej oraz wodzie pitnej [20]. Dotychczas, najczęściej wybieraną techniką analityczną stosowaną do oznaczania śladowej analityki pozostałości estrogenów jest chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrią mas (LC-MS) lub tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) [21]. Wielkość próbki zależy od spodziewanego stężenia oraz czułości metody analitycznej. Z reguły waha się od 200 ml do nawet 8000 ml [13]. Jedną z metod przechowywania próbki jest przepuszczenie jej przez złożę Carbohydrate-4, przemycie metanolem i przechowywanie w temperaturze -18°C. Alternatywną metodą pobierania próbek jest zastosowanie technik pasywnych, tj. adsorpcji analitów na specjalnych półprzepuszczalnych membranach umieszczonych przez okres od 1 do 10 tygodni w analizowanych próbkach wody [20]. Ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz jest stosowana sporadycznie [21], podobnie jak technika mikroekstrakcji do fazy stałej, można również zastosować metodę QuEChERS (ang. **Q**uick, **E**asy, **C**heap, **E**ffective, **R**ugged, **S**afe) [6]. W literaturze dostępnych jest szereg procedur wydzielania i wzbogacania związków estrogenowych techniką SPE, należy dostosować je do potrzeb analizowanych próbek. Jedną z nowszych propozycji ekstrakcji naturalnych, jak i syntetycznych estrogenów jest zastosowanie techniki mikroekstrakcji na upakowanym sorbencie (MEPS, ang. *MicroExtraction by Packed Sorbents*) oraz polimerów z nadrukiem molekularnym (MIP, ang. *Molecularly Imprinted Polymer*). Najczęściej stosowanymi metodami konwersji związków estrogenowych w lotne pochodne jest: silylowanie (MSTFA, TMSI, MTBSTFA), arylowanie (PFPA, TFAA, HFBI) i alkilowanie (PFBBr). Różnią się one między sobą reaktywnością oraz stabilnością tworzących się pochodnych. Podczas oznaczania estrogenów metodami LC-MS i LC-MS/MS, szczególnie, gdy jonizacja próbki odbywa się techniką ESI-MS, obecność wielu substancji w złożonych

próbekach środowiskowych może znacząco modyfikować wyniki. W efekcie pojawiają się problemy z powtarzalnością i dokładnością metodyk (tzw. efekty matrycy). Takie zjawiska są znacznie rzadziej obserwowane, gdy używana jest technika GC-MS [20].

#### 2.4. 4-nonylofenol

Nonylofenole to związki chemiczne pochodzenia antropogenicznego, które stanowią cenną bazę surowcową w procesach produkcyjnych. W literaturze opisano technikę ekstrakcji sorpcyjnej, która wykorzystuje mieszadło magnetyczne, które jest pokryte warstwą medium ekstrakcyjnego (*Stir Bar Sorptive Extraction* – SBSE). W tej metodzie czynnikiem ekstrakcyjnym jest polidimetylosiloksan (PDMS). Ekstrakcję ksenoestrogenów w próbkach wody w literaturze prowadzono w trzech etapach: (1) reakcja acylowania, (2) ekstrakcja sorpcyjna z wykorzystaniem ruchomego elementu sorpcyjnego (SBSE) oraz (3) desorpcja związków do rozpuszczalnika organicznego w polu ultradźwiękowym. W celu upochodnienia fenoli, do próbki o objętości 25 cm<sup>3</sup> i pH=11÷12 wprowadzono bezwodnik kwasu octowego, następnie wprowadzono materiał sorpcyjny (pręt PDMS), naczynie zamknięto i wytrząsano mechanicznie. Po ekstrakcji materiał sorpcyjny umieszczono w chlorku metylenu i desorbowano w płuczce ultradźwiękowej. Do oznaczeń wykorzystano chromatograf gazowy sprzężony z detektorem mas (GC/MS – pułapka jonowa) model Saturn 2100T firmy Varian. Autor przeprowadził również walidację metody SBSE-LD-GC/MS i udowodnił, że metoda umożliwia ilościowe oznaczanie ksenoestrogenów w roztworach wodnych na poziomie stężeń 1÷5 µg/cm<sup>3</sup>. Natomiast czułość ekstrakcji sorpcyjnej (SBSE) z desorpcją termiczną (TD) i analizą GC/MS w przypadku 4tOP, 4NP i BPA wynosiła odpowiednio 0,5 pg/cm<sup>3</sup>, 5 pg/cm<sup>3</sup> i 2 pg/cm<sup>3</sup>, a precyzja metody nie przekraczała 5,5%. Dodatkowo procedura ta jest możliwa do powszechnego stosowania w laboratoriach badających próbki środowiskowe, bez dodatkowych nakładów na aparaturę [22].

#### 2.5. Pestycydy

Pestycydy stanowią grupę zanieczyszczeń środowiska bardzo często występujących w wodach powierzchniowych i gruntowych. Ważną drogą transportu pestycydów są opady atmosferyczne, za pośrednictwem których zanieczyszczeniu ulegają zbiorniki wodne, znajdujące się w dużej odległości od terenów rolniczych [23]. Natomiast stosowanie pestycydów w rolnictwie przynosi szereg korzyści ekonomicznych, między innymi przyczynia się do poprawy wydajności oraz jakości produkcji rolnej. Z drugiej strony stwarza jednak zagrożenie dla środowiska i zdrowia człowieka. Dlatego niezmiernie ważne jest, aby stosować

pestycydy w sposób przemysłany, zgodny z obowiązującym prawem oraz prowadzić skuteczną, urzędową kontrolę pod kątem pozostałości pestycydów w środowisku [8]. Stosuje się różne rodzaje technik ekstrakcyjnych, w przypadku pestycydów można zastosować ekstrakcję za pomocą rozpuszczalnika (SE). Jedną z pierwszych powszechnie stosowanych procedur wyodrębniania pestycydów jest ekstrakcja ciecz-ciecz lub ciałem stałym, a następnie rozdzielaniu faz przez sedymentację, filtrowanie lub odwirowanie. Natomiast ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomagana ultradźwiękami (USE) stosowana jest głównie do próbek stałych. Próbkę miesza się z rozpuszczalnikiem ekstrahującym i poddaje działaniu ultradźwięków. Sprzyja to uwalnianiu zalegających w niej substancji.

Na przykład technika ekstrakcyjna z udziałem sorbentu wykorzystuje zjawisko sorpcji analitów z ekstrahowanej próbki na powierzchni ciała stałego, w których fazą ekstrahującą jest złożone sorbentu. Wyróżnić należy: klasyczną ekstrakcję do fazy stałej wraz z jej modyfikacją, ekstrakcję do zdyspergowanej fazy stałej dSPE oraz ekstrakcję analitu z próbki zmieszanej z fazą stałą MSPD.

Natomiast w technikach ekstrakcyjnych z udziałem membrany, służącej do przygotowania próbek do analizy LC-MS, wykorzystuje się właściwości membrany, jako przegrody cienkowsarstwowej, zdolnej do selektywnego transportu cząsteczek pomiędzy fazą zasilającą (donorową) a fazą odbierającą (akceptorową). Zwykle stosuje się ekstrakcję membranową połączoną z absorpcją w rozpuszczalniku MASE oraz mikroekstrakcję z wykorzystaniem włókna z osadzoną fazą ciekłą HF-LPME. Wykorzystuje się również techniki ekstrakcyjne łączone, które należą do nowo rozwijającej się grupy metod umożliwiających przygotowanie próbek do analiz. W badaniach pozostałości pestycydów w żywności metodami LC-MS wśród technik łączonych powszechna jest metoda QuEChERS, chociaż znane są i inne metody, takie jak techniki ekstrakcji łącznej CHEMAC czy STEMIT. Spośród technik stosowanych do oczyszczania ekstraktów na szczególną uwagę zasługuje chromatografia wykluczania SEC, znana również pod nazwą chromatografii żelowej GPC. To metoda polegająca na efektywnym rozdzieleniu składników mieszanin różniących się wielkością cząsteczek. Cząsteczki składników próbki, o wymiarach mniejszych niż wymiary porów fazy stacjonarnej (sita molekularnego) znajdującej się w kolumnie, mogą w nie wnikać, dzięki czemu zostają dłużej zatrzymane w kolumnie niż związki chemiczne o większych cząsteczkach. Oznaczanie pestycydów następuje najczęściej metodą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS) [9].



### 3. Wnioski

Przeprowadzony przegląd metodyki oznaczania wybranych ksenoestrogenów dowodzi, że oznaczanie ich w próbach środowiskowych wymaga zastosowania technik chromatograficznych, a w szczególności chromatografii gazowej lub cieczowej sprzężonej z podwójnym detektorem mas (GC/MS/MS, LC/MS/MS), rzadziej atomowej spektrometrii absorpcyjnej (ASA). Zastosowanie technik chromatograficznych poprzedzone jest ekstrakcją. Najczęściej jest to ekstrakcja w układzie ciecz – ciecz, ekstrakcja do fazy stałej, rzadziej mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej. Ostatnio coraz większym zainteresowaniem cieszy się ekstrakcja metoda QuEChERS. W metodzie tej najczęściej stosowanym rozpuszczalnikiem jest acetonitryl, który jest mało reaktywny i nie ma zbyt drażniącego zapachu w porównaniu do innych rozpuszczalników. Poza tym metoda ta wymaga stosunkowo niewielkiej objętości próbek, jak również niewielkiej ilości szkła laboratoryjnego, nie wymaga filtracji, etapu odparowania/zatężania, czy wymiany rozpuszczalników [23].

W pracy wymieniono również normy, w których opisane są metody oznaczania alkilofenoli, ich etoksydatów i bisfenolu A oraz WWA w badanych próbkach, co jest cenną informacją, przede wszystkim dla laboratoriów akredytowanych. Oznaczanie ksenoestrogenów w próbach środowiskowych jest dość trudne, dlatego jeśli tylko to możliwe, dobrze jest oprzeć się na metodach znormalizowanych.

### Literatura

- [1] Soto A. M., Sonnenschein C., Chung K. L., Fernandez M. F. i inni: *The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants*, Environmental Health Perspectives, **103** (Suppl 7), 1995, str. 113 – 122.
- [2] Forma E., Szymczyk A., Kreślak A.: *Wybrane ksenoestrogeny i ich wpływ na zdrowie człowieka*, Folia Medica Lodziensia, **40** (1), 2013, str. 79 – 97.
- [3] Dyrektywa 2000/06/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dn. 23.10.2000r. ustanawiająca ramy wspólnotowego działania w dziedzinie polityki wodnej (Dz.U.UE L z dnia 22 grudnia 2000r.).
- [4] Dudziak M., Bodzek M.: *Usuwanie estrogennych mikrozanieczyszczeń organicznych z wody w procesie odwróconej osmozy (RO) i nanofiltracji (NF)*, Technologia Wody, **1** (3), 2010, str. 22–26.
- [5] Kot-Wasik A., Dębska J., Namieśnik J.: *Przemiany, stężenia i oznaczanie pozostałości środków farmaceutycznych w środowisku*, Chemia i Inżynieria Ekologiczna, **10** (8), 2003, str. 723–750.
- [6] Różalska S., Bernat P., Machnicki P., Długoński J.: *Fungal transformation of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in the presence of various concentrations of sodium chloride*, International Biodeterioration and Biodegradation, **103**, 2015, str. 77–84.
- [7] Kot-Wasik A., Dąbrowska D., Namieśnik J.: *Degradacja związków organicznych w środowisku*, Degradation of organic compounds in the environment, **9/10**, 2002, str. 1077–1096.
- [8] Snopczyński T., Strusiński P., Góralczyk K., Czaja K., Hernik A., Korcz W., Kucharska A., Ludwicki J.: *Zastosowanie metody QuEChERS w połączeniu z chromatografią gazową z detektorem wychwytu elektronów (GC-ECD) w analizie pozostałości pestycydów w żywności*, Roczniki

- Państwowego Zakładu Higieny, **62 (2)**, 2011, str. 145 – 151.
- [9] Stachniuk A, Fornal E.: *Techniki ekstrakcyjne stosowane w oznaczaniu pozostałości pestycydów w żywności metodą LC-MS*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, **1 (104)**, 2016, str. 5 – 18.
- [10] Polski Komitet Normalizacyjny (PKN)
- [11] Sosnowska-Nosek K.; Styszko K.; Golas J.: *Wstępne oznaczenie diklofenaku w ściekach oczyszczonych techniką chromatografii gazowej z detektorem mas (GC/MS)*, Proceedings of ECOpole, **5 (2)**, 2011, str. 601 – 607.
- [12] Gomółka E., Szaynok A.: *Chemia wody i powietrza*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 1997
- [13] Hermanowicz W., Dojlido J., Dożańska W., Koziorowski B., Zerbe J.: *Fizyczno chemiczne badanie wody i ścieków*, Arkady, Warszawa 1999
- [14] Boczkaj G., Gilgenast E., Nowicka P., Przyjazny A., Kamiński M.: *Procedura przygotowania próbki do oznaczania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w produktach technicznych*, Camera Separatora, **2 (122)**, 2010, str. 41–56.
- [15] Dębska J., Kot-Wasik A., Namieśnik J.: *Determination of nonsteroidal antiinflammatory drugs in water samples using liquid chromatography coupled with diode-array detector and mass spectrometry*, Journal of Separation Science, **28 (17)**, 2005, str. 2419–2426.
- [16] Kasprzyk-Hordern B., Dąbrowska A., Vieno N., Kronberg L., Nawrocki J.: *Occurrence of acidic pharmaceuticals in the Warta river in Poland*, Chemical Analysis, **53**, 2008, str. 289–304.
- [17] Kudlek E., Bohdziewicz J., Dudziak M.: *Oznaczanie wybranych niesteroidowych leków przeciwbólowych i przeciwzapalnych w środowisku wodnym*, Proceedings of ECOpole, **9 (2)**, 2015, 641 – 648.
- [18] Kostowski W., Herman Z.S.: *Farmakologia. Podstawy farmakoterapii tom I*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2003.
- [19] Carpinteiro J., Quintana J.B., Rodriguez I., Carro A.M., Lorenzo R.A., Cela R.: *Applicability of solid-phase microextraction followed by on-fiber silylation for the determination of estrogens in water samples by gas chromatography-tandem mass spectrometry*, Journal Chromatography A, **12 (1-2)**, 2004, str. 179–185.
- [20] Kumirska J., Potrykus M., Migowska N., Malkiewicz E.: *Zastosowanie chromatografii gazowej do rozdzielania i oznaczania wybranych estrogenów w próbkach środowiskowych*, Camera Separatora, **4 (1)**, 2012, str. 7–36
- [21] Briciu R.D., Kot-Wasik A., Namieśnik J.: *Analytical Challenges and Recent Advances in the Determination of Estrogens in Water Environments*, Journal of Chromatography Sciences, **47**, 2009, str. 127.
- [22] Dudziak M., Bodzek M., *Badania zawartości ksenoestrogenów w wodzie metodą ekstrakcji sorpcyjnej*, Ochrona Środowiska, **31 (1)**, 2009, str. 9 – 14.
- [23] Beyer A., Biziuk M.: *Oznaczanie pozostałości pestycydów w próbkach żywności z wykorzystaniem metodyki QuEChERS*, Ecological Chemistry and Engineering, **16 (4)**, 2009, 483 – 495.