

Applicability of QuEChERS method in analysis of plant protection products residue in honey

Wykorzystanie metody QuEChERS w analizie pozostałości środków ochrony roślin w miodzie

Magdalena Grzegorzak, Ewa Szpyrka, Magdalena Słowik-Borowiec, Anna Kurdziel, Aneta Matyaszek, Julian Rupar

Summary

The aim of study was to check the usefulness of the QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe) method coupled with gas chromatography with electron capture detection and thermionic detection in analysis of pesticide residues in honey samples. 19 insecticides belonging to different chemical groups: organochlorine, organophosphates and pyrethroids were selected for the analysis. For 17 active substances satisfactory recovery, according to SANCO (DG SANCO – Directorate General for Health and Consumers) were received. For 2 substances: aldrin and HCB recovery did not fulfill the criteria of SANCO. The relative standard deviation (RSD), for all analyzed active substances were equal or lower than 20%.

Key words: QuEChERS method, honey, pesticide residue, detection

Streszczenie

Celem badań było sprawdzenie przydatności metody QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe) w połączeniu z chromatografią gazową z detekcją wychwytu elektronów oraz termojonową w badaniach pozostałości środków ochrony roślin w miodzie. Do badań wybrano 19 insektycydów należących do różnych grup chemicznych: chloroorganicznej, fosforoorganicznej oraz pyretroidów. Dla 17 badanych substancji aktywnych otrzymano zadowalające wartości odzysków spełniające wymagania SANCO (Dyrekcja Generalna ds. Zdrowia i Konsumentów). Dla dwóch substancji: aldryny i HCB średni odzysk nie spełniał wyżej wymienionych kryteriów. Względne odchylenia standardowe (RSD), dla wszystkich badanych substancji aktywnych były równe bądź niższe od 20%.

Słowa kluczowe: metoda QuEChERS, miód, pozostałości pestycydów, oznaczanie

Institut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Terenowa Stacja Doświadczalna
Langiewicza 28, 35-101 Rzeszów
M.Grzegorzak@iorpib.poznan.pl

Wstęp / Introduction

Stosowanie środków ochrony roślin (ś.o.r.) ma znaczący udział w zwiększaniu efektywności, jakości oraz ilości produkcji rolnej. Wykorzystanie ich niesie korzyści, ale stwarza także zagrożenie dla zdrowia człowieka i środowiska. Stosowane w rolnictwie (szczególnie w okresie wzmożonych zabiegów agrotechnicznych wiosną i latem) mogą być przyczyną nie tylko masowych zatruć pszczoł, ale również przedostawać się i kumulować w produktach pszczelich, np. miodzie (Kisła 2009).

Unia Europejska prowadzi zrównoważoną politykę dotyczącą stosowania pestycydów, która ma doprowadzić do eliminacji zagrożeń płynących ze stosowania ś.o.r. W konsekwencji, towary spożywcze muszą być kontrolowane, pod kątem występowania substancji niedozwolonych w żywności oraz przestrzegania najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości (NDP).

Metoda QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe) pozwala na oznaczenie pozostałości ś.o.r. przy minimalnej liczbie etapów pracy laboratoryjnej i niewielkim zużyciu odczynników oraz szkła laboratoryjnego. Metoda polega na ekstrakcji i podziale w układzie ciecz-ciecz składników próbki z użyciem acetonitrylu, a następnie oczyszczeniu ekstraktu z wykorzystaniem metody dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej (SPE – Solid Phase Extraction) (Snopczyński i wsp. 2011).

Celem badań było sprawdzenie przydatności metody QuEChERS w połączeniu z chromatografią gazową z detekcją wychwyty elektronów oraz termojonową w badaniach pozostałości ś.o.r. w miodzie.

Materialy i metody / Materials and methods

Materiał do badań stanowił miód pochodzący z pasieki położonej na czystych ekologicznie terenach Pogórza Dynowskiego. Miód został wstępnie poddany analizie pod kątem wykluczenia obecności wytypowanych do badań pestycydów. Nie stwierdzono obecności badanych związków na poziomach powyżej granic oznaczalności. Badania wykonano w Laboratorium Badania Pozostałości Środków Ochrony Roślin w Rzeszowie.

Do badań wybrano 19 insektycydów należących do różnych grup chemicznych: chloroorganicznej, fosforoorganicznej oraz pyretroidów (tab. 1). Pozostałości ś.o.r. oznaczano na dwóch poziomach wzbogacenia: 0,003–0,02 i 0,11–0,24 mg/kg. Dla każdego z poziomów wykonano 6 powtórzeń. W badaniach wykorzystano dostępne na rynku gotowe zestawy do ekstrakcji i oczyszczania SPE. Wybrano kolumny, które stosowane są do oczyszczania owoców i warzyw o niskiej zawartości tłuszczu, wosku i pigmentów (Agilent Technologies, USA). Probki przygotowywano zgodnie z polską normą PN-EN 15662:2008 (PN-EN 15662 2008). W końcowym etapie, przed oznaczeniem chromatograficznym, zastosowano modyfikację metody, polegającą na zmianie rozpuszczalnika z acetonitrylu na eter naftowy.

Do próbek zawierających 5 g miodu dodawano 5 ml wody oraz mieszaninę wzorców. Probkę ekstrahowano acetonitrylem, a następnie dodawano mieszaninę soli za-

wierającą: 4 g bezwodnego siarczanu magnezu, 1 g chlorku sodu, 1 g cytrynianu trisodu i 0,5 g seskwiwodnego wodorocytrnianu disodu. Tak przygotowaną próbkę wytrząsano przez 30 sekund, a następnie wirowano przez 5 minut przy obrotach > 3000 obr./min, 6 ml warstwy acetonitrylowej przenoszono do polipropylenowej próbki, w której znajdowało się 150 mg PSA (primary secondary amine) i 900 mg siarczanu sodu, energicznie wytrząsano i odwirowywano przez 5 minut. Z tak uzyskanego ekstraktu pobierano 2 ml, przenoszono do szklanej próbki, odparowywano do sucha, a suchą pozostałość rozpuszczono w 1 ml (dla niższego poziomu wzbogacenia) lub 2 ml (dla wyższego poziomu wzbogacenia) eteru naftowego. Probki oznaczano na chromatografii gazowej Agilent 7890 wyposażonym w detektory: wychwyty elektronów (EC) i azotowo-fosforowy (NP), sterowany za pomocą oprogramowania ChemStation, wyposażony w automatyczny dozownik próbek oraz kolumnę chromatograficzną HP-5MS, 30 m × 0,32 mm × 0,25 µm. Zastosowano następujący program temperaturowy pieca: temperatura początkowa 100°C – 0 minut → 10°C/minutę → 180°C – 4 minuty → 3°C/minutę → 220°C – 15 minut → 10°C/minutę → 260°C – 11 minut. Warunki analizy instrumentalnej: przepływy gazów: gaz nośny azot – 4,4 ml/minutę; detektor NP: wodór – 3,0 ml/minutę, powietrze – 60 ml/minutę, gaz dodatkowy (azot) – 10 ml/minutę; detektor EC: gaz dodatkowy (azot) – 30 ml/minutę. Temperatura detektora NP: 300°C, detektora EC: 260°C; temperatura komory nastrzykowej: 250°C. Łączny czas analizy wynosił 55,3 minut. Na kolumnę dozowano 2 µl ekstraktu. Badane związki były identyfikowane na podstawie czasów retencji.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Według europejskiego przewodnika SANCO, średni odzysk pestycydów w ilościowych metodach analitycznych powinien wynosić 70–120%, a powtarzalność powinna być mniejsza lub równa 20% (SANCO 2009). W tabeli 1. przedstawiono wyniki przeprowadzonego doświadczenia. Dla 17 badanych substancji aktywnych (s.a.) otrzymano zadowalające wartości odzysków spełniające wymagania SANCO. Granice oznaczalności wynosiły: 0,003–0,02 mg/kg. Dla dwóch substancji: aldryny i HCB, średni odzysk nie spełniał wyżej wymienionych kryteriów. Średni odzysk aldryny dla poziomu 0,01 mg/kg wyniósł 68,1%, z kolei dla HCB średni odzysk dla poziomu 0,13 mg/kg wyniósł 139,5%. Względne odchylenia standardowe (RSD), dla wszystkich badanych s.a. były równe bądź niższe od 20%.

Uzyskane wyniki potwierdzają przydatność metody QuEChERS w połączeniu z chromatografią gazową z równoczesną detekcją wychwyty elektronów oraz termojonową w badaniach pozostałości ś.o.r. w miodzie.

Opisane w literaturze metody oznaczania pozostałości pestycydów w miodzie są czasochłonne, pracochłonne oraz wymagają wykorzystania drogich detektorów masowych (Pang i wsp. 2006). Dodatkowo, w niektórych metodach przygotowanie próbki wymaga specjalnych warunków ekstrakcyjnych: ciśnienia i temperatury (Rissato 2004).

Tabela 1. Odzyski otrzymane przy użyciu metody QuEChERS
Table 1. Pesticide recovery obtained with the QuEChERS method

Substancja aktywna Active substance	Detektor Detector	Poziom wzbogacenia Level of fortification [mg/kg]	Średni odzysk Average recovery [%]	SD [%]	RSD [%]
HCH alfa	ECD	0,14	113,6	5,2	4,6
	ECD	0,01	74,2	6,1	8,2
HCB	ECD	0,13	139,5	6,3	4,5
	ECD	0,01	102,9	9,0	8,8
HCH gamma	ECD	0,15	106,1	5,1	4,8
	ECD	0,02	95,9	19,9	20,0
Chlorpyrifos-methyl	ECD	0,12	119,4	7,2	6,0
	ECD	0,01	109,3	2,2	2,0
	NPD	0,12	111,2	3,9	3,5
	NPD	0,01	73,6	5,1	6,9
Heptachlor	ECD	0,14	116,9	6,6	5,6
	ECD	0,01	81,4	6,7	8,2
Fenitrothion	ECD	0,12	119,8	8,6	7,2
	ECD	0,01	118,2	11,0	9,3
	NPD	0,12	114,1	3,8	3,3
	NPD	0,01	84,8	6,9	8,1
Aldrin	ECD	0,13	110,4	4,5	4,1
	ECD	0,01	68,1	3,7	5,5
Malathion	NPD	0,14	112,2	3,4	3,0
	NPD	0,01	93,4	7,7	8,2
Heptachlor epoxide	ECD	0,03	103,0	4,3	4,2
	ECD	0,003	85,9	12,5	14,6
Endrin	ECD	0,13	89,5	14,6	18,4
	ECD	0,01	78,1	12,5	17,3
pp'DDD	ECD	0,13	115,6	6,3	5,4
	ECD	0,01	70,5	4,2	6,0
Phosalone	ECD	0,12	118,7	9,7	8,1
	ECD	0,01	91,3	11,9	13,0
	NPD	0,12	112,7	3,8	3,3
	NPD	0,01	86,0	8,7	10,1
Acrinathrin	ECD	0,11	109,3	5,5	5,0
	ECD	0,01	75,6	16,3	20,2
Cyhalothrin-lambda	ECD	0,11	113,2	7,0	6,2
	ECD	0,01	72,2	10,3	14,3
Permethrin	ECD	0,13	103,9	4,5	4,3
	ECD	0,01	73,1	10,3	13,9
Cyfluthrin	ECD	0,13	108,1	7,3	6,8
	ECD	0,01	75,4	13,6	18,2
Cypermethrin	ECD	0,13	107,5	6,4	6,0
	ECD	0,01	76,7	9,5	13,0
Fenvalerate	ECD	0,24	111,5	8,0	7,2
	ECD	0,02	75,7	8,2	10,8
Deltamethrin	ECD	0,24	113,1	8,0	7,1
	ECD	0,02	83,1	9,8	11,8

SD – odchylenie standardowe – standard deviation

RSD – względne odchylenie standardowe – relative standard deviation

ECD – detektor wychwyty elektronów – electron capture detector

NPD – detektor fosforowo-azotowy – nitrogen-phosphorus detector

Inne artykuły opisują oznaczanie pozostałości ś.o.r w miodzie dla wybranych grup chemicznych, z wykorzystaniem pojedynczych detektorów (Morzycka 2002; Wilczyńska 2007).

Wykorzystana w pracy metoda pozwala oznaczyć pozostałości wielu pestycydów w jednym procesie analitycznym. Stosuje się gotowe zestawy do ekstrakcji i oczyszczania, zużywając przy tym małą ilość rozpuszczalników organicznych. Metoda QuEChERS umożliwia zatem skrócenie czasu przygotowania próbek. Pozwala to szybciej przebadać większą liczbę próbek. Przeprowadzone doświadczenia potwierdzają, że można wykonać oznaczenia pozostałości pestycydów w miodzie na granicy oznaczalności 0,003–0,02 mg/kg wykorzystując detektory EC i NP. W celu osiągnięcia niższych granic oznaczalności

konieczne byłoby zastosowanie chromatografii gazowej w połączeniu ze spektrometrią masową MS-MS.

Wnioski / Conclusions

1. Metoda QuEChERS w połączeniu z chromatografią gazową z równoczesną detekcją wychwyty elektronów oraz termojonową, pozwala na oznaczenie pozostałości ś.o.r. należących do różnych grup chemicznych w próbkach miodu.
2. Wyniki analiz dla 17 z 19 analizowanych s.a. spełniają kryteria europejskich wymogów SANCO (wyjątek stanowią HCB i aldryna).

Literatura / References

- Kisała J., Dżugan M. 2009. Wpływ stanu środowiska i sposobu utrzymania pszczół na jakość miodu. Zesz. Nauk. Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego 11: 115–120.
- Morzycka B. 2002. Simple method for the determination of trace levels of pesticides in honeybees using matrix solid-phase dispersion and gas chromatography. J. Chromatography A 982: 267–273.
- Pang G.-F., Fan C.-L., Liu Y.-M., Cao Y.-Z., Zhang J.-J., Fu B.-L., Li X.-M., Li Z.-Y., Wu Y.-P. 2006. Multi-residue method for the determination of 450 pesticide residues in honey, fruit juice and wine by double-cartridge solid-phase extraction/gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Food Additives and Contaminants 23 (8): 777–810.
- PN-EN 15662. 2008. Żywność pochodzenia roślinnego – Oznaczanie pozostałości pestycydów metodą GC-MS i/lub LC-MS(/MS) po uprzedniej ekstrakcji i rozdzieleniu acetonitrylem oraz oczyszczaniu metodą dyspersji SPE – Metoda QuEChERS. PKN, Warszawa, 80 ss.
- Rissato S.R., Galhiane M.S., Knoll F.R., Apon B.M. 2004. Supercritical fluid extraction for pesticide multiresidue analysis in honey: Determination by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometry detection. J. Chromatography A 1048: 153–159.
- SANCO/10684/2009. Metod validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed, 40 pp.
- Snopeczyński T., Struciński P., Góralczyk K., Czaja K., Hernik A., Korcz W., Kucharska A., Ludwicki J.K. 2011. Zastosowanie metody QuEChERS w połączeniu z chromatografią gazową z detektorem wychwyty elektronów (GC-ECD) w analizie pozostałości pestycydów w żywności. Roczn. Państwowego Zakładu Higieny 62 (2): 145–151.
- Wilczyńska A., Przybyłowski P. 2007. Residues of organochlorine pesticides in Polish honeys. APIACTA 42: 16–24.