

Various parameters affecting the pesticide residues extraction efficiency from the plant material

Wpływ różnych czynników na efektywność ekstrakcji pozostałości środków ochrony roślin z materiału roślinnego

Agnieszka Hołodyńska-Kulas, Anna Nowacka

Summary

In this study we introduced modifications of QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe) method in terms of type of solvent (acetone, acetonitrile, ethyl acetate, dichloromethane), extraction temperature (25°C, 6°C, –18°C), extraction time (1–30 minutes) and way of extracting (by hand and using Heidolph Multi Reax shaker). The aim of the experiment was to investigate the influence of modifications on the pesticide residues extraction efficiency from the plant material. A mixture of 33 pesticides was quantitatively recovered from spiked tomato samples and determined using gas chromatography with nitrogen phosphorus detector and electron capture detector (GC–NPD/ECD). For each condition there were three replicates. Extraction by acetonitrile, ethyl acetate and dichloromethane gave good results (recoveries above 70% for almost all compounds). Ethyl acetate and dichloromethane were found to be more suitable solvents for QuEChERS extraction than acetonitrile. However, use of dichloromethane and ethyl acetate resulted in larger impact of interfering compounds than use of acetone and acetonitrile. In the presence of acetone recoveries of most compounds were below 70%. Shaking time and intensity were less important in condition of chilled and frozen samples (recoveries above 80%). Storage at room temperature and shaking with Heidolph decreased extraction efficiency with the length of shaking. 1 minute shaking by hand and 5 minutes shaking using Heidolph seemed sufficient for more than 70% yields under all temperature conditions.

Key words: pesticide residues, QuEChERS, gas chromatography, GC–NPD/ECD

Streszczenie

Przedstawiono modyfikacje metody ekstrakcji QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe) obejmujące zmianę: rozpuszczalnika (aceton, acetonitryl, octan etylu, dichlorometan), temperatury ekstrakcji (25°C, 6°C, –18°C), czasu ekstrakcji (1–30 minut) i sposobu ekstrahowania (ręcznie i za pomocą wytrząsarki Heidolph Multi Reax). Celem eksperymentów była ocena wpływu tych modyfikacji na wydajność ekstrakcji pozostałości środków ochrony roślin (ś.o.r.) z materiału roślinnego. Eksperymenty przeprowadzono na próbce kontrolnej pomidorów wzbogaconej mieszaniną 33 związków. Analizę pozostałości ś.o.r. wykonano metodą chromatografii gazowej (GC–NPD/ECD). Każdy eksperyment wykonano w trzech powtórzeniach. Ekstrakcja acetonitrylem, octanem etylu i dichlorometanem dawała dobre wyniki, odzyski powyżej 70%, dla prawie wszystkich związków. Octan etylu i dichlorometan były bardziej efektywne od acetonitrylu. W obecności acetonu odzysk wielu badanych związków był niższy od 70%. Zastosowanie dichlorometanu, jak i octanu etylu wiązało się z większą intensywnością ko-ekstrakcji związków przeszkadzających w analizie chromatograficznej, niż w przypadku użycia acetonitrylu czy acetonu. Czas i intensywność wytrząsania nie miała większego wpływu na wydajność ekstrakcji w przypadku próbek, które po wytrząsaniu zostały schłodzone (odzysk >80%). Natomiast w przypadku próbek pozostawionych w temperaturze pokojowej użycie wytrząsarki powodowało spadek efektywności ekstrakcji wraz z długością wytrząsania. Wytrząsanie ręczne przez 1 minutę okazało się wystarczające w każdych warunkach temperaturowych, podobnie jak 5 minutowa ekstrakcja za pomocą wytrząsarki Heidolph.

Słowa kluczowe: pozostałości środków ochrony roślin, QuEChERS, chromatografia gazowa, GC–NPD/ECD

Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Badania Pozostałości Środków Ochrony Roślin
Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań
a.holodynska@iorpib.poznan.pl; a.nowacka@iorpib.poznan.pl

Wstęp / Introduction

Metody analityczne wykorzystywane w ocenie ilościowej i jakościowej pozostałości środków ochrony roślin (ś.o.r.) są nieustannie rozwijane i udoskonalane. Nowoczesne techniki wielopozostałościowe pozwalają oznaczyć pozostałości środków ochrony roślin (ś.o.r.) należących do różnych grup chemicznych. w ostatnich latach, metoda QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe) wykorzystująca dyspersyjną ekstrakcję do fazy stałej (dSPE – dispersive solid phase extraction), stała się jedną z najpopularniejszych metod służących przygotowaniu badanych próbek roślinnych do analizy pozostałości ś.o.r. za pomocą metod chromatograficznych sprzężonych ze spektrometrią mas (PN-EN 15662). Natomiast wykorzystanie metody QuEChERS z zastosowaniem detektorów selektywnych jest nieliczne i fragmentaryczne (Aysal i wsp. 2007; Schenck i wsp. 2009; Furlani i wsp. 2011; González-Curbelo i wsp. 2011; Park i wsp. 2011).

Podstawowym problemem analizy pozostałości ś.o.r. jest fakt, że występują one w materiale roślinnym w bardzo małych stężeniach, co sprawia trudności analityczne. Przygotowanie próbki do oznaczania pozostałości ś.o.r. jest złożone i składa się z kilku etapów: ekstrakcji pozostałości z próbki, oczyszczania ekstraktu, identyfikacji i oznaczenia analitu wybraną techniką instrumentalną. Każdy etap niesie ze sobą ryzyko straty analitu. Wiele czynników może wpływać na efektywność ekstrakcji pozostałości ś.o.r. z materiału roślinnego.

W pracy przedstawiono modyfikacje metody QuEChERS polegające na zastosowaniu różnych rozpuszczalników do ekstrakcji (aceton, acetonitryl, octan etylu, dichlorometan), jak również zmianie czasu ekstrakcji

i sposobu ekstrahowania (ręcznie i mechanicznie) oraz temperatury na drugim etapie ekstrakcji.

Celem eksperymentów była ocena wpływu tych modyfikacji na wydajność ekstrakcji pozostałości ś.o.r. z materiału roślinnego. Ideą pracy była optymalizacja metody QuEChERS w połączeniu z techniką GC–NPD/ECD (gas chromatography with nitrogen phosphorus detector and electron capture detector) oraz jej zastosowanie do oznaczania zróżnicowanych grup związków.

Materiały i metody / Materials and methods

Eksperymenty przeprowadzono na próbce kontrolnej pomidorów wzbogaconej mieszaniną związków (tab. 1) należących do różnych grup chemicznych: 19 związków o właściwościach grzybobójczych, 13 owadobójczych i 1 chwastobójczych (standardy analityczne o czystości $\geq 95\%$, Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Germany). Oznaczenia pozostałości ś.o.r. wykonano przy pomocy chromatografu gazowego 6890 N (Agilent Technologies, USA) z automatycznym podajnikiem próbek, wyposażonego w detektor azotowo-fosforowy oraz detektor wychwyty elektronów (GC–NPD/ECD) obsługiwane przy pomocy GC ChemStation Rev.A.10.02. Rozdział substancji przeprowadzono na kolumnie kapilarnej DB-5, 30 m $\times$ 0,53 mm $\times$ 0,88 μ m (Agilent J&W Scientific, USA).

Pierwszy eksperyment dotyczył wpływu rozpuszczalnika na efektywność ekstrakcji pozostałości ś.o.r. z materiału roślinnego. Probki matrycy roślinnej (10 g) wzbogacono wspomnianą mieszaniną wzorców na poziomie 0,1–0,5 mg/kg (dla większości związków poziom

Tabela 1. Mieszanina wzorców analitycznych stosowana w badaniach. Podział związków na klasy chemiczne (Rozporządzenie 2009)
Table 1. The analytical standards mixture used in experiments. Division into chemical classes (Regulation 2009)

Grupa Group	Klasa chemiczna Chemical class	Związek Compound
Fungicydy – Fungicides	aromatic	chlorothalonil
	oxazole	vinclozolin
	dicarboximide	iprodione, procymidone
	anilide	fenhexamid
	conazole	bitertanol, flusilazole, tebuconazole, tetraconazole
	pyrimidine	cyprodinil, fenarimol, mepanipyrim, pirimethanil
	organophosphorus	tolclofos-methyl
	phenylpyrrole	fludioxonil
	strobilurin	trifloxystrobin, azoxystrobin
	amide	dichlofluanid, tolylfluanid
Herbicydy – Herbicides	dinitroaniline	trifluralin
Insektycydy – Insecticides	carbamate	pirimicarb
	organochlorine	lindane, p,p'-DDE
	organophosphorus	dimethoate, chlorpyrifos, phosalone, pirimiphos-methyl
	pyrethroid	alpha-cypermethrin, bifenthrin, deltamethrin, esfenvalerate
	pyrazole	tebufenpyrad
	unclassified	fenazaquin

wzbogacenia wynosił 0,2 mg/kg). Ekstrakcję prowadzono w probówkach polipropylenowych (50 ml) z udziałem 10 ml acetonu, acetonitrylu, octanu etylowego (czyste do analiz pozostałości ś.o.r., J.T.Baker, Deventer, The Netherlands) lub dichlorometanu (destylat, POCH, Gliwice, Poland). Przed wykonaniem drugiego etapu ekstrakcji temperaturę ekstraktów obniżono do -18°C . Do tak przygotowanych próbek dodano mieszaninę soli, zawierającą: 1 g chlorku sodu (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 0,5 g uwodnionego wodorocytrynianu disodu (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 1 g uwodnionego cytrynianu trisodu (Sigma-Aldrich Chemistry, Steinheim, Germany) oraz 4 g bezwodnego siarczanu magnezu (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Po odwirowaniu próbek, warstwę organiczną przeniesiono do probówek propylenowych i oczyszczono techniką dSPE z użyciem mieszaniny 0,77 g bezwodnego siarczanu magnezu oraz 0,13 g Bondesil PSA (Varian Palo Alto, CA, USA). Ekstrakty ponownie odwirowano i przeniesiono do probówek szklanych, zakwaszono dodatkiem 50 μl 5% roztworu kwasu mrówkowego (J.T. Baker, Deventer, The Netherlands) i delikatnie odparowano w strumieniu azotu. Przed analizą chromatograficzną odparowane do sucha pozostałości rozpuszczono w mieszaninie aceton/heksan (aceton – J.T. Baker, Deventer, The Netherlands; heksan – Merck, Darmstadt, Germany). Analizę z zastosowaniem każdego rozpuszczalnika wykonano w trzech powtórzeniach.

Kolejny eksperyment polegał na zmianie czasu ekstrakcji i sposobu ekstrahowania pozostałości ś.o.r. z materiału roślinnego oraz temperatury ekstraktu przed drugim etapem ekstrakcji i podziałem faz. Doświadczenie to przeprowadzono na próbkach kontrolnych pomidorów wzbogaconych identycznie jak w pierwszym eksperymencie. Do ekstrakcji pozostałości z próbki użyto acetonitrylu. próbki ekstrahowano ręcznie lub mechanicznie za pomocą wytrząsarki Heidolph Multi Reax. Czas wytrząsania wynosił: 1, 5, 10, 20 i 30 minut. Przed drugim

etapem ekstrakcji próbki przechowywano w różnych temperaturach: 25°C (eksperyment 2a), 6°C (eksperyment 2b) i -18°C (eksperyment 2c). Dalsze etapy analizy wykonano w taki sam sposób, jak w pierwszym doświadczeniu. Każdą kombinację analizy wykonano w trzech powtórzeniach.

Wyniki oceniono na podstawie badań odzysków poszczególnych związków z próbek wzbogaconych. Poprawność i precyzja uzyskana dla związków, stanowiące średni odzysk i względne odchylenie standardowe (RSD – relative standard deviation), były parametrami pozwalającymi na ocenę wydajności ekstrakcji. Odzyski mieszczące się w zakresie 70–120% i precyzja mniejsza od 20%, wskazywały na to, że warunki ekstrakcji były właściwe (SANCO/12495/2011).

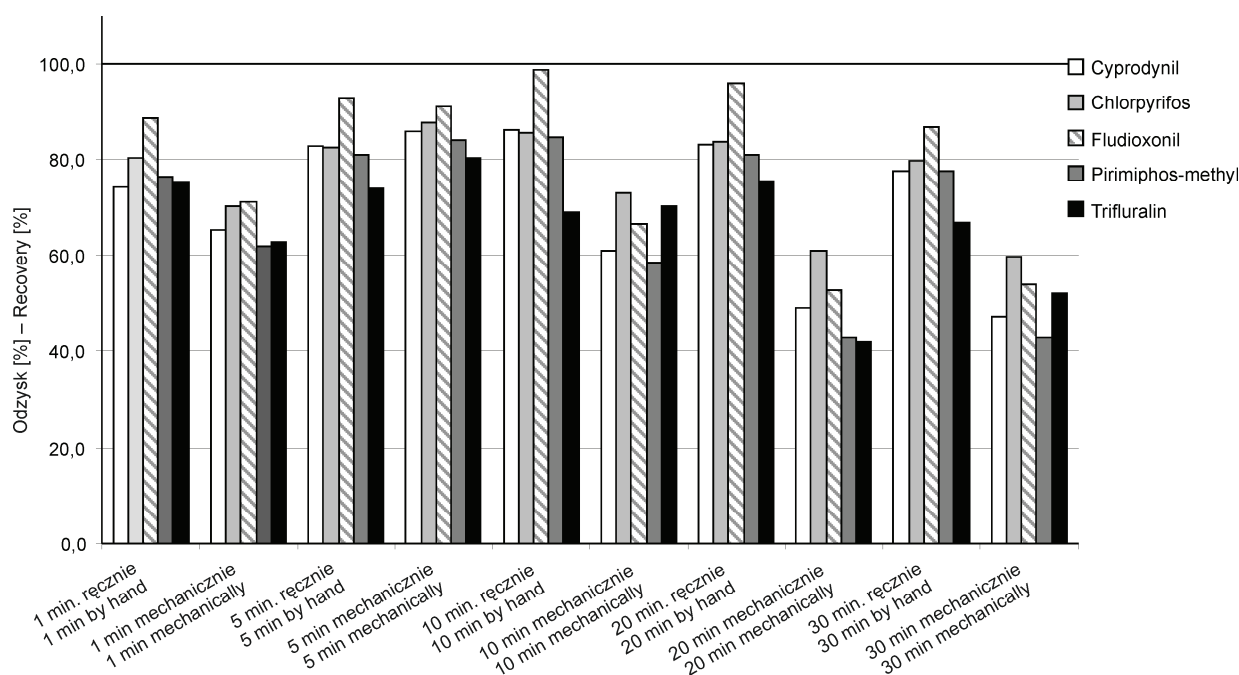
Wyniki i dyskusja / Results and discussion

W tabeli 2. podano zestawienie wyników uzyskanych w pierwszym eksperymencie. Wyniki analiz, w których zastosowano ekstrakcje acetonitrylem, octanem etylu i dichlorometanem spełniały kryteria zawarte w SANCO/12495/2011 dla prawie wszystkich związków. Wyjątki stanowiły takie związki, jak: chlorotalonil i dichlofluanid (odzyski odpowiednio: 52,7 i 64,9%, podczas ekstrakcji acetonitrylem), chlorotalonil i fenheksamid (odzyski odpowiednio: 55,0 i 61,8%, podczas ekstrakcji octanem etylu) oraz fenheksamid (odzysk 27,3%, podczas ekstrakcji dichlorometanem). Aceton okazał się nie najlepszym rozpuszczalnikiem do prowadzenia ekstrakcji QuEChERS (odzyski takich związków, jak: chlorotalonil, iprodion, cyprodynil, pirymetamil, dichlofluanid, trifluralina, pirymikarb, dimetoat i pirymifos metylowy były niższe od 60%). Chlorotalonil charakteryzował się sporą niestabilnością podczas ekstrakcji wszystkimi rozpuszczalnikami, z wyjątkiem dichlorometanu (odzysk na poziomie 81,9%,

Tabela 2. Wpływ rozpuszczalnika na efektywność ekstrakcji pozostałości ś.o.r. z materiału roślinnego
Table 2. Solvent effect on the pesticide residues extraction efficiency from the plant material

Związek Compound	Poziom wzbogacenia Level of fortification [mg/kg]	Odzysk [%] $\pm$ Względne odchylenie standardowe [%] Recovery [%] $\pm$ Relative standard deviation [%]			
		acetonitryl acetonitril	aceton acetone	octan etylu ethyl acetate	dichlorometan dichloromethane
1	2	3	4	5	6
Chlorotalonil	0,2	52,7 $\pm$ 7,1	35,4 $\pm$ 9,7	55,0 $\pm$ 12,5	81,9 $\pm$ 8,7
Vinclozolin	0,2	80,1 $\pm$ 1,5	71,8 $\pm$ 6,0	83,2 $\pm$ 1,7	90,8 $\pm$ 2,2
Iprodione	0,5	84,9 $\pm$ 9,4	54,6 $\pm$ 10,4	114,1 $\pm$ 7,4	91,8 $\pm$ 12,6
Procymidone	0,2	85,0 $\pm$ 3,7	76,6 $\pm$ 5,0	96,6 $\pm$ 5,0	94,3 $\pm$ 0,3
Fenhexamid	0,4	74,9 $\pm$ 3,9	75,9 $\pm$ 8,1	61,8 $\pm$ 10,4	27,3 $\pm$ 6,4
Bitertanol	0,4	86,9 $\pm$ 2,9	80,0 $\pm$ 6,2	97,7 $\pm$ 2,9	91,4 $\pm$ 2,4
Flusilazole	0,2	86,5 $\pm$ 4,4	73,1 $\pm$ 7,7	91,6 $\pm$ 5,0	94,2 $\pm$ 1,7
Tebuconazole	0,2	84,9 $\pm$ 1,6	75,9 $\pm$ 7,4	95,9 $\pm$ 2,8	95,4 $\pm$ 0,5
Tetraconazole	0,2	87,9 $\pm$ 1,1	76,9 $\pm$ 7,2	90,3 $\pm$ 2,0	98,5 $\pm$ 3,9

1	2	3	4	5	6
Cyprodinil	0,2	79,8±5,6	48,7±11,2	93,9±3,8	96,3±2,4
Fenarimol	0,2	78,8±4,6	71,3±5,8	93,7±6,5	93,3±2,0
Mepanipyrim	0,3	85,3±3,2	70,3±9,1	93,2±3,2	98,6±1,0
Pirimethanil	0,2	79,5±3,3	36,2±14,2	90,7±3,5	94,1±1,3
Tolclofos-methyl	0,2	83,7±4,7	71,6±6,4	78,8±2,2	85,1±2,8
Fludioxonil	0,2	82,7±2,6	73,3±4,7	81,5±1,4	83,4±3,8
Trifloxystrobin	0,2	86,4±2,7	84,0±6,8	76,7±3,9	85,0±2,7
Azoxystrobin	0,2	78,1±6,7	63,8±4,9	98,8±5,5	98,2±1,8
Dichlofluanid	0,2	64,9±6,3	57,5±6,7	70,1±1,1	72,9±6,2
Tolylfluanid	0,2	73,5±4,2	68,0±5,3	72,5±1,4	77,9±7,3
Trifluralin	0,2	76,1±5,8	59,4±11,2	72,9±3,7	85,1±4,8
Pirimicarb	0,2	79,7±3,9	23,0±14,9	94,4±4,8	100,7±4,2
Lindane	0,1	79,5±3,5	63,1±8,0	81,8±2,5	89,9±4,1
P,p'-DDE	0,1	82,7±5,2	63,4±4,6	81,0±2,4	86,0±1,8
Dimethoate	0,2	93,2±6,7	51,0±9,7	96,5±6,7	100,4±2,2
Chlorpyrifos	0,2	89,5±9,3	79,6±8,9	82,2±8,7	91,8±3,3
Phosalone	0,2	85,8±6,7	79,7±8,6	78,7±6,1	85,7±1,0
Pirimiphos-methyl	0,2	83,9±4,1	45,3±10,0	90,1±4,5	95,8±12,0
Alpha-cypermethrin	0,2	89,1±3,2	78,9±3,7	85,5±4,9	88,7±0,7
Bifenthrin	0,2	86,5±5,6	70,5±5,0	83,4±2,6	87,0±1,4
Deltamethrin	0,2	86,5±4,0	77,5±3,5	83,9±4,1	90,5±0,5
Esfenvalerate	0,2	85,7±5,0	75,6±2,6	81,8±3,9	86,7±0,2
Tebufenpyrad	0,2	87,2±1,2	86,2±3,8	84,9±2,0	90,4±2,7
Fenazaquin	0,2	79,3±2,4	67,1±4,4	83,2±1,0	88,7±4,0



Rys. 1. Wpływ długości wytrząsania na efektywność ekstrakcji pozostałości ś.o.r. z materiału roślinnego (ekstrakcja w 25°C)

Fig. 1. Influence of extraction time on the pesticide residue extraction efficiency from the plant material (extraction in 25°C)

Tabela 3. Efektywność ekstrakcji pozostałości ś.o.r. z materiału roślinnego związana z czasem i sposobem ekstrakcji w zależności od warunków temperaturowych

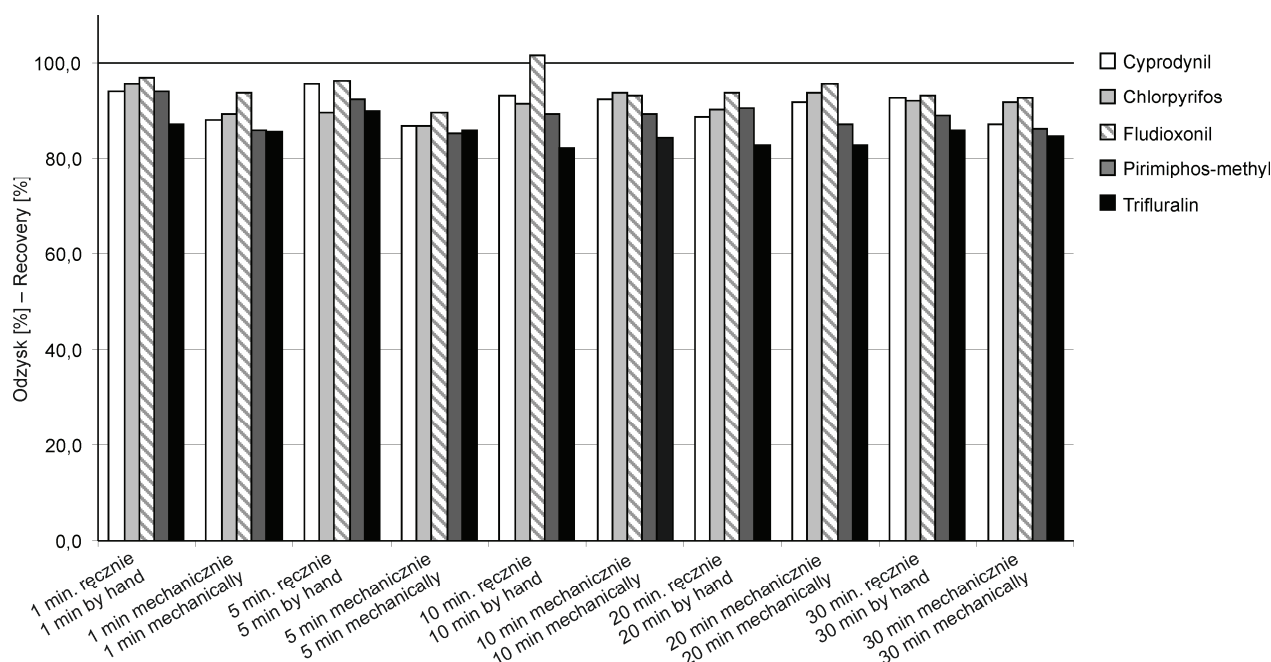
Table 3. The pesticide residues extraction efficiency from the plant material associated with extraction time and way of extracting depending on the temperature conditions

Związek Compound	Odzysk [%] eksperyment 2a Recovery [%] experiment 2a						Odzysk [%] eksperyment 2b Recovery [%] experiment 2b						Odzysk [%] eksperyment 2c Recovery [%] experiment 2c					
	temperatura 25°C – temperature 25°C						temperatura 6°C – temperature 6°C						temperatura –18°C – temperature –18°C					
	długość wytrząsania [min] – length of the shaking [min]																	
	1		5		20		1		5		20		1		5		20	
	R	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R	M	R	M
Alpha-cypermethrin	84,1	70,7	79,8	83,7	82,7	60,0	88,6	85,5	90,4	89,5	84,0	89,4	90,8	86,5	103,7	84,6	88,6	88,
Azoxystrobin	85,1	66,1	84,6	90,9	86,2	46,9	93,0	90,4	95,0	97,5	91,2	94,4	93,8	90,9	115,7	93,0	87,9	88,6
Bifenthrin	83,0	72,3	81,6	87,4	83,3	64,8	88,5	89,7	93,6	90,5	87,8	93,9	98,8	92,3	96,5	87,5	90,3	92,1
Bitertanol	79,2	65,7	82,0	87,1	83,5	53,0	88,3	91,3	95,7	93,8	88,4	93,0	92,7	90,6	86,4	88,9	86,2	91,8
Chlorothalonil	39,5	43,5	45,3	55,4	53,7	33,6	47,5	60,2	53,4	60,5	45,3	62,2	44,3	63,0	59,3	58,5	44,5	57,7
Chlorpyrifos	80,3	70,3	82,5	87,8	83,8	61,2	90,3	87,9	91,8	91,2	89,2	92,2	95,8	89,4	89,5	86,9	90,3	93,8
Cyprodinil	74,3	65,3	83,0	86,0	83,3	49,1	90,3	91,0	92,3	93,1	90,7	91,0	94,3	88,1	90,5	86,8	88,7	91,9
Deltamethrin	84,1	70,1	78,7	84,2	82,0	60,3	86,5	86,4	89,4	90,2	83,5	88,3	91,7	88,3	105,0	85,2	86,6	87,2
Dichlofluanid	50,3	53,0	65,4	64,1	40,1	43,1	66,4	62,4	68,7	62,7	59,2	59,6	55,4	73,0	64,3	68,7	49,5	68,0
Dimethoate	99,2	80,3	99,4	102,1	105,7	56,4	102,0	94,2	107,2	100,1	103,9	98,7	107,2	99,1	109,4	94,7	99,8	99,4
Esfenvalerate	82,6	69,1	77,7	81,8	81,0	60,4	89,0	86,9	89,4	89,4	83,4	88,8	92,1	86,5	104,1	83,5	86,9	86,4
Fenarimol	79,0	66,8	85,8	87,6	86,8	52,5	92,2	88,8	96,1	91,8	89,9	89,4	95,0	88,3	109,8	85,7	89,6	91,7
Fenazaquin	80,2	63,4	86,8	79,0	78,1	50,7	83,6	85,7	90,2	89,2	85,2	86,0	93,4	84,5	89,4	81,4	87,4	87,1
Fenhexamid	75,8	63,2	83,1	81,8	87,1	53,3	84,6	83,5	92,2	88,5	87,5	86,7	86,3	80,3	82,5	76,0	80,1	78,4
Fludioxonil	88,7	71,1	93,1	91,3	96,2	52,8	98,8	92,5	101,0	96,6	95,2	95,6	97,1	93,8	96,4	89,6	93,8	95,6
Flusilazole	82,5	68,2	87,5	89,4	90,3	53,1	96,9	92,4	97,7	94,1	95,2	94,5	98,6	91,9	99,0	89,8	92,2	93,1
Iprodione	81,9	77,0	107,6	107,1	110,9	64,4	139,0	92,3	143,4	122,2	155,9	97,6	158,8	100,9	159,0	105,8	150,0	96,7
Lindane	72,6	65,6	81,5	84,2	81,3	46,6	88,2	85,5	88,6	84,6	85,4	87,6	90,1	89,2	91,7	87,1	88,7	85,6
Mepanipyrim	77,8	67,6	87,2	87,0	88,6	54,9	92,7	91,3	97,4	96,4	92,4	92,7	97,1	92,2	95,4	86,9	92,5	94,4
P,p'-DDE	79,7	70,7	73,9	81,8	75,0	62,4	85,7	81,8	94,2	85,1	80,4	83,4	87,4	85,5	86,4	81,2	83,2	84,1
Phosalone	85,9	72,5	88,2	89,2	90,0	59,8	94,8	91,3	97,6	94,1	94,0	94,9	100,1	92,9	103,8	87,7	95,6	93,4
Pirimethanil	83,0	68,1	86,8	91,5	89,7	47,6	94,2	89,1	94,4	93,4	91,9	92,5	96,6	91,3	94,6	87,5	92,0	92,7
Pirimicarb	90,8	67,0	89,3	91,2	89,4	42,4	91,6	91,5	95,4	94,5	90,6	92,5	93,9	91,8	94,0	87,9	90,2	93,2
Pirimiphos-methyl	76,3	62,1	81,1	84,2	80,9	43,0	90,3	88,4	91,8	91,0	88,3	89,5	94,3	85,8	92,2	85,4	90,4	87,1
Procymidone	80,1	72,1	88,0	93,6	91,2	61,1	97,9	93,5	97,4	97,9	95,9	96,2	102,9	94,3	99,1	91,3	100,9	94,6
Tebuconazole	83,6	67,1	89,2	90,2	89,2	54,5	95,0	91,3	94,9	96,1	94,6	94,5	95,7	92,6	95,8	88,3	92,8	92,9
Tebuconazole	82,4	69,0	92,8	87,0	106,7	59,9	109,0	89,9	98,9	90,7	95,8	90,6	103,1	87,6	96,5	86,3	97,4	88,1
Tetraconazole	84,4	71,5	88,7	92,9	92,4	57,5	96,4	92,9	99,2	97,4	96,4	96,5	101,0	93,5	101,8	90,6	96,3	94,6
Tolclofos-methyl	79,8	70,4	83,1	89,4	85,9	52,4	91,0	87,8	93,8	90,5	90,1	91,9	95,3	90,7	91,6	87,9	90,7	90,0
Tolyfluanid	40,3	63,7	41,1	77,3	42,7	53,7	61,3	74,1	61,0	74,8	46,4	72,0	60,8	80,7	63,3	76,6	52,9	80,0
Trifloxystrobin	74,8	71,6	76,4	85,3	76,0	58,6	92,2	90,1	85,5	91,6	83,7	90,1	91,8	89,7	100,2	85,3	81,3	87,4
Trifluralin	75,2	62,8	73,8	80,4	75,4	41,9	85,1	83,2	82,8	83,1	79,7	90,5	87,2	85,6	90,0	85,9	82,8	82,9
Vinclozolin	74,6	70,4	86,5	90,4	91,7	55,8	95,3	91,1	97,2	95,0	94,1	94,5	95,9	92,3	100,1	89,3	94,7	93,5

R – wytrząsanie ręczne – hand shaking, M – wytrząsanie wytrząsarką Heidolph – shaking using Heidolph shaker

precyzja – 8,7%). Budzi to nadzieję na udoskonalenie metody ekstrakcji QuEChERS, która podczas zastosowania dichlorometanu będzie pozwalała na prace z tak niestabilnym związkiem, jak chlorotalonil. Z kolei dobrze

ekstrahujący się innymi rozpuszczalnikami fenheksamid, przy wytrząsaniu dichlorometanem okazał się niestabilny (odzysk na poziomie 27,3%, precyzja – 6,4%). Zastosowanie dichlorometanu, jak i octanu etylu powodowało



Rys. 2. Wpływ długości wytrząsania na efektywność ekstrakcji pozostałości ś.o.r. z materiału roślinnego (ekstrakcja w -18°C)
 Fig. 2. Influence of extraction time on the pesticide residue extraction efficiency from the plant material (extraction in -18°C)

wzrost intensywności ko-ekstrakcji związków przeszkadzających w analizie chromatograficznej, niż w przypadku użycia acetonitrylu czy acetonu (poziom barwników zwiększał się w kolejności: acetonitryl < aceton < octan etylu < dichlorometan). Ich obecność w próbce powoduje zanieczyszczenie dozownika i kolumny chromatograficznej.

Wyniki otrzymane podczas analizy próbek schłodzonych przed drugim etapem ekstrakcji spełniały wymagania (tab. 3, eksperyment 2b, 2c, rys. 2) niezależnie od czasu prowadzonej ekstrakcji oraz sposobu wytrząsania. Drugi etap ekstrakcji niesie ze sobą największe ryzyko straty analitu, gdyż zastosowany w mieszaninie buforującej bezwodny siarczan magnezu powoduje wzrost temperatury (reakcja egzotermiczna podczas tworzenia się hydratu siarczana magnezu), co może spowodować rozkład niektórych wrażliwych związków. Obniżenie temperatury ekstraktu pozwala na skompensowanie niekorzystnego wzrostu temperatury (Raczkowski i Hołodyńska 2011). Intensywność wytrząsania ekstraktu z rozpuszczalnikami miała znaczenie w przypadku próbek pozostawionych w temperaturze pokojowej (tab. 3, eksperyment 2a). Podczas wytrząsania mechanicznego zaobserwowano spadek efektywności ekstrakcji wraz z długością wytrząsania. Po 5 min wytrząsania odzysk dla przykładowego związku chlorpiryfosu wynosił 87,8%, po 10 min – 73,0%, po 20 min – 61,2%, natomiast po 30 min – 59,9% (rys. 1). w rezultacie wytrząsanie ręczne przez 1 min okazało się wystarczające w każdych warunkach temperaturowych, podobnie jak 5 min ekstrakcja przy pomocy wytrząsarki Heidolph.

Wnioski / Conclusions

1. Ekstrakcja pozostałości ś.o.r. acetonitrylem, octanem etylu i dichlorometanem dawała bardzo dobre wyniki, odzyski wyższe od 70%, dla prawie wszystkich związków. Octan etylu i dichlorometan były bardziej efektywne od acetonitrylu.
2. Aceton okazał się nie najlepszym rozpuszczalnikiem do prowadzenia ekstrakcji QuEChERS. Odzysk wielu badanych związków był niższy od 70%.
3. Czas i intensywność wytrząsania nie miały większego wpływu na odzysk pozostałości w przypadku próbek, które po wytrząsaniu zostały schłodzone (odzysk powyżej 80%). W przypadku próbek pozostawionych w temperaturze pokojowej użycie wytrząsarki powodowało spadek efektywności ekstrakcji wraz z długością wytrząsania.
4. Wytrząsanie ręczne przez 1 min okazało się dostateczne w każdych warunkach temperaturowych, podobnie jak 5 min ekstrakcja przy pomocy wytrząsarki Heidolph.
5. Metoda ekstrakcji QuEChERS w połączeniu z klasycznymi, selektywnymi detektorami stosowanymi w badaniach pozostałości ś.o.r. (ECD, NPD) może być zastosowana do analizy związków należących do różnych grup chemicznych, co uprości i przyspieszy tego typu badania.

Literatura / References

- Aysal P., Ambrus A., Lehotay S.J., Cannavan A. 2007. Validation of an efficient method for the determination of pesticide residues in fruit and vegetables using ethyl acetate for extraction. *J. Environ. Sci. Heal. B* 42: 481–490.
- Furlani R.P.Z., Marcilio K.M., Leme F.M. 2011. Analysis of pesticide residues in sugarcane juice using QuEChERS sample preparation and gas chromatography with electron capture detection. *Food Chem.* 126: 1283–1287.
- González-Curbelo M.A., Hernández-Borges J., Ravelo-Pérez L.M. 2011. Insecticides extraction for banana leaves using a modified QuEChERS method. *Food Chem.* 125: 1083–1090.
- Park J.-Y., Choi J.-H., El-Aty A.M.A., Kim B.M., Ohc J.-H., Do J.-A., Kwonc K.S., Shim K.-H., Choi O.-J., Shin S.C., Shim J.-H. 2011. Simultaneous multiresidue analysis of 41 pesticide residues in cooked foodstuff using QuEChERS: Comparison with classical method. *Food Chem.* 128: 241–253.
- PN-EN 15662. 2008. Żywność pochodzenia roślinnego – Metoda QuEChERS, 81 ss.
- SANCO/12495/2011. Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed, 40 pp.
- Schenck F., Wong J., Lu C., Li J., Holcomb J.R., Mitchell L.T.M. 2009. Multiresidue analysis of 102 organophosphorus pesticides in produce at part-per-billion levels using a modified QuEChERS method and gas chromatography with pulsed flame photometric detection. *J. AOAC Int.* 92 (2): 561–573.
- Rackowski M., Hołodyńska A. 2011. Zastosowanie metody QuEChERS do analizy pozostałości pestycydów w pomidorach za pomocą GC–NPD/ECD. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 51 (2): 727–731.
- Rozporządzenie (WE) nr 1185/2009 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 25 listopada 2009 r. w sprawie statystyk dotyczących pestycydów. 2009. Dz. U. L 324 z 10.12.2009.