PROGRESS IN PLANT PROTECTION
61 (3): 221-238, 2021
eISSN 2084-4883

DOI: 10.14199/ppp-2021-025
Published online: 01.09.2021

Received: 28.06.2021 / Accepted: 17.08.2021

ARTYKUŁ ORYGINALNY

Optymalizacja wielopozostałościowej metody oznaczania środków ochrony roślin w owocach

Optimalization of multiresidue method for the determination of pesticide residues in fruits

Agnieszka Hołodyńska-Kulas*

Streszczenie

Przedmiotem badań przedstawionych w tej pracy była optymalizacja warunków wielopozostałościowej analizy środków ochrony roślin za pomocą ekstrakcji QuEChERS poprzez zastosowanie prostego i taniego w eksploatacji chromatografu gazowego z detektorami selektywnymi pracującymi równocześnie (GC-ECD/NPD). Badania przeprowadzono zgodnie z wytycznymi SANTE/11945/2015 na próbkach kontrolnych reprezentatywnych produktów żywnościowych z grupy owoców o wysokiej zawartości wody (jabłka) oraz o wysokiej kwasowości i wysokiej zawartości wody (truskawki) dla 160 związków w zakresie 0,005–0,02 mg/kg. Dokładność metody spełniała wymagania (poprawność: 70–120%, precyzja: poniżej 20%) dla 135 substancji w próbkach jabłek oraz 137 w próbkach truskawek. Główne zalety metodologii to: dobra liniowość odpowiedzi detektorów (R^2 powyżej 0,995), niskie poziomy granic oznaczalności (0,005 mg/kg dla ponad 20 związków, 0,01 mg/kg dla około 120 związków), możliwość jednoczesnego oznaczania szerokiego spektrum związków (włączając kilka „trudnych") bez konieczności wykonywania analiz pojedynczych. Zastosowanie dwóch detektorów umożliwia uzyskanie większej ilości danych podczas jednego dozowania próbki oraz potwierdzenie wyniku dla większości związków, co pozwala wykluczyć wyniki fałszywie pozytywne.

Słowa kluczowe: optymalizacja, pozostałości środków ochrony roślin, owoce, aplikacja metody

Abstract

The main aim of this study was to optimize the QuEChERS methodology for the comprehensive determination of pesticide residues using a simple and inexpensive gas chromatography equipped with selective detectors working simultaneously (GC-ECD/NPD). The method was validated in accordance with the SANTE/11945/2015 guidelines. Representative fruit matrices were chosen from the commodities group with high water content (apples), and with high acidity and high water content (strawberry) for a 160 compounds in the range of 0.005−0.02 mg/kg. The accuracy of the method was as required (recovery: 70–120%, precision: below 20%) for 135 active substances in apples samples and 137 in strawberries samples. The main advantages of the methodology include: good detector response linearity (R^2 above 0.995), low limits of detection (0.005 mg/kg for more than 20 compounds, 0.01 mg/kg for about 120 compounds), possibility of simultaneous determination of a wide range of compounds (including some "difficult" ones) without use of a single residue methods. The simultaneous use of two selective detectors allows to obtain more data during a single dose of the sample and confirmation of the result for most compounds, which allows to prevent false positives ones.

Key words: optimalization, pesticide residues, fruit, method application

Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań
*corresponding author: a.holodynska@iorpib.poznan.pl
ORCID: 0000-0003-0214-9346

Wstęp / Introduction

Owoce stanowią podstawowy składnik naszej codziennej diety będąc źródłem witamin, soli mineralnych i błonnika. Ich prawidłowa i bezpieczna dla konsumenta produkcja jest ważnym zadaniem stawianym polskim producentom. Według danych statystycznych Głównego Urzędu Statystycznego w 2020 roku krajowa produkcja owoców z drzew i krzewów owocowych była porównywalna z produkcją warzyw gruntowych i została oceniona na ponad 4,3 mln ton (wzrost w porównaniu z rokiem poprzednim o ok. 9%), gdzie zbiory z sadów jabłoniowych stanowiły aż 80% całości (ok. 3,4 mln ton) (GUS 2020). Jedną z najważniejszych metod ochrony upraw przed wpływem szkodliwych organizmów jest stosowanie chemicznych środków ochrony roślin (ś.o.r.). Niestety mankamentem stosowania agrochemikaliów jest możliwość wystąpienia pozostałości substancji czynnych (s.cz.) tych preparatów w żywności i paszach.

Badania pozostałości ś.o.r. w żywności oraz paszach prowadzone są zarówno w Polsce, jak i na całym świecie, w celu zapewnienia ochrony zdrowia ludzi i zwierząt (Rozporządzenie 2002, 2009, 2011; Ustawa 2003, 2010, 2013; Dyrektywa 2009). Najwyższe dopuszczalne poziomy pozostałości (NDP) są normowane w żywności i paszach jednakowo w całej Unii Europejskiej (Rozporządzenie 2005). Ważnym aspektem dla laboratoriów analitycznych prowadzących kontrolę pozostałości ś.o.r. jest posiadanie narzędzi w postaci nowoczesnych wielopozostałościowych metod, gwarantujących poprzez sprawne i szybkie wykonywanie badań lepszą ochronę konsumentów w ramach funkcjonującego systemu bezpieczeństwa żywności w Unii Europejskiej.

Badanie pozostałości ś.o.r. jest trudnym zadaniem analitycznym ze względu na różnorodność właściwości fizykochemicznych substancji czynnych ś.o.r. oraz zróżnicowanie materiału biologicznego, w którym mogą się one znaleźć. Jest to analiza śladowa, w której należy oznaczyć bardzo niskie stężenia wielu związków równocześnie. Dlatego też metody analityczne wykorzystywane w ocenie ilościowej i jakościowej pozostałości ś.o.r. są nieustannie rozwijane oraz poszukiwane są coraz to nowe rozwiązania, aby sprostać wzrastającym w tej dziedzinie wymaganiom. Oczekuje się, że nowoczesne programy monitorowania pozostałości będą dostosowane do aktualnych przepisów prawnych. Wprowadzenie nowych, szybszych, miarodajnych i skuteczniejszych metod analitycznych jest zatem istotne dla laboratoriów analitycznych w celu poprawy jakości badań i ich konkurencyjności. Bez wątpienia, najbardziej efektywne podejście do analizy ś.o.r. polega na wykorzystaniu metod wielopozostałościowych, które na przestrzeni lat nieustannie udoskonalano (Anastassiades i wsp. 2003; AOAC 2007; Norma 2008, 2018a). Metoda ekstrakcji QuEChERS (ang. Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe) stała się jedną z najpopularniejszych metod służących przygotowaniu próbek do analizy pozostałości ś.o.r. Polega ona na zminiaturyzowanej ekstrakcji acetonitrylem i oczyszczaniu ekstraktu za pomocą dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej (dSPE – dispersive solid phase extraction). Metoda ta stosowana jest głównie w analizie pozostałości ś.o.r. opartej na nowoczesnej, lecz nadal kosztownej chromatografii gazowej i cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas.

Głównym celem badań była optymalizacja warunków wielopozostałościowej analizy ś.o.r. za pomocą ekstrakcji QuEChERS poprzez zastosowanie prostego i taniego w eksploatacji chromatografu gazowego z detektorami selektywnymi (GC-ECD/NPD) oraz przeprowadzenie walidacji metody zgodnie z wytycznymi dokumentu SANTE/11945/2015 (Guidance 2015) na próbkach kontrolnych reprezentatywnych produktów żywnościowych z grupy owoców o wysokiej zawartości wody (jabłka) oraz o wysokiej kwasowości i wysokiej zawartości wody (truskawki). Podrzędnym celem przeprowadzonych badań była akredytacja metody na zgodność z normą ISO/IEC 17025 (Norma 2018b) oraz wykorzystanie jej w rutynowej analizie pozostałości ś.o.r. jako metodę zastępczą do metody wykorzystującej tandemową spektrometrię mas (MS/MS).

Materiały i metody / Materials and methods

Do badań walidacyjnych wybrano 2 matryce – jabłka i truskawki, owoce charakteryzujące się stosunkowo częstymi przypadkami wykrywania w nich pozostałości pestycydów głównie fungicydów i insektycydów (Nowacka i wsp. 2014, 2015, 2020; Nowacka i Hołodyńska-Kulas 2020).

Zakres walidacji obejmował 160 substancji czynnych ś.o.r. stosowanych aktualnie lub w przeszłości w rolnictwie. Doboru związków dokonano na podstawie wspólnotowego programu monitoringowego Unii Europejskiej (Rozporządzenie 2015) oraz wykazu dopuszczonych substancji czynnych do stosowania w Unii Europejskiej (Rozporządzenie 2009, 2011). Walidacja metody została przeprowadzona według zaleceń SANTE/11945/2015 w zakresie stężeń 0,005–0,5 mg/kg. Z uwagi na dużą ilości danych w pracy omówiono jedynie wyniki dotyczące najniższych poziomów – 0,005; 0,01 i 0,02 mg/kg. Wydajność metody oceniono na podstawie odzysków z próbek wzbogaconych. Wyznaczono dokładność metody, czyli poprawność – średni odzysk z sześciu powtórzeń i precyzję – względne odchylenie standardowe (ang. Relative Standard Deviation – RSD).

Do analiz zastosowano certyfikowane materiały odniesienia o czystości w zakresie 73,5–99,5% (Dr. Ehrenstorfer, Niemcy) 160 związków z różnych grup chemicznych o różnych właściwościach fizykochemicznych (tab. 1), z których przygotowano roztwory podstawowe, a następnie 8 mieszanin w acetonie. Roztwory robocze do wzbogacenia próbek oraz sporządzenia krzywych kalibracyjnych przygo-

towano z mieszanin podstawowych poprzez odpowiednie rozcieńczenie w heksanie. Kalibrację wykonano na podstawie krzywej w ekstrakcie z matrycy w oparciu o dwukrotny pomiar odpowiedzi detektora dla co najmniej 4 poziomów stężeń w zakresie 0,005–0,5 µg/ml. Za pomocą regresji liniowej wyznaczono równanie prostej y = ax + b i współczynnik korelacji R^2.

Wolne od pozostałości próbki wybranych matryc wzbogacano mieszaninami ś.o.r. 30 minut przed ekstrakcją. Równolegle ze wzbogaconymi próbkami przygotowywano próbkę kontrolną (bez dodatku mieszanin wzorców) oraz próbkę odczynnikową (pozbawioną matrycy i wzorców). Zastosowana metoda ekstrakcji QuEChERS została zoptymalizowana na podstawie normy PN-EN-15662:2018-06. 10 g próbki ekstrahowano ręcznie przez 2,5 minuty w probówkach polipropylenowych o pojemności 50 ml za pomocą acetonitrylu (10 ml). Temperaturę ekstraktu obniżono do –18°C (wstawiono do zamrażarki na 2 godziny). Do tak przygotowanej próbki dodano buforującą mieszaninę soli, zawierającą: 1 g chlorku sodu, 0,5 g uwodnionego wodorocytrynianu disodu, 1 g uwodnionego cytrynianu trisodu oraz 4 g bezwodnego siarczanu (VI) magnezu i natychmiast wytrząsano. Po odwirowaniu próbki, warstwę acetonitrylową (5 ml) przeniesiono do probówki propylenowej, zawierającej mieszaninę oczyszczającą (dSPE) 0,77 g bezwodnego siarczanu magnezu oraz 0,13 g Bondesil PSA. Wytrząsano ręcznie przez 1 minutę. Po oczyszczeniu próbkę ponownie odwirowano. 1,5 ml otrzymanego w ten sposób ekstraktu przeniesiono do szklanej probówki, zakwaszono dodatkiem 50 µl 5% acetonitrylowego roztworu kwasu mrówkowego i delikatnie odparowano w strumieniu azotu. W ostatnim kroku przygotowania ekstraktu do analizy chromatograficznej, suchą pozostałość rozpuszczono w 1,5 ml mieszaniny aceton/heksan (1 : 9, v/v). Końcowe stężenie ekstraktu odpowiadało 1 g próbki w 1 ml roztworu (1 g/ml).

Do analizy chromatograficznej zastosowano chromatograf gazowy współpracujący równolegle z detektorami wychwytu elektronów i azotowo-fosforowym Agilent 6890N (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). Analizę przeprowadzono korzystając z kolumny kapilarnej DB-5 (30 m × 0,53 mm × 0,88 µm), dzięki której po optymalizacji warunków jej pracy, uzyskano satysfakcjonujące rozdzielenie związków. Temperatura pieca chromatograficznego wynosiła 100°C; dozownika – 250°C; detektora EC – 300°C; detektora NP – 320°C. Program temperaturowy: Tp – 100°C/1 min, przyrost temperatury (rate) – 10°C/min, T_k – 280°C/41 min. Całkowity czas analizy wynosił 60 minut. Jako gaz nośny zastosowano hel o przepływie 3,8 ml/min. Przepływ azotu przez detektor EC wynosił 60,0 ml/min. Przepływ wodoru, azotu i powietrza przez detektor NP wynosił odpowiednio: 3,0 ml/min, 10,0 ml/min i 120,0 ml/min. Chromatograf pracował w trybie splitless. Objętość nastrzyku wynosiła 4 µl.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Punktem wyjścia dla niniejszej pracy była metoda ekstrakcji QuEChERS po raz pierwszy zaprezentowana przez zespół naukowców Anastassiades'a, Lehotay'a, Štajnbaher'a i Schenck'a w 2003 roku (Anastassiades i wsp. 2003), którą następnie zoptymalizowano (AOAC 2007) i znormalizowano (Norma 2008, 2018b). Metoda ta została zmodyfikowana ze względu na zastosowany do analizy instrumentalnej chromatograf gazowy współpracujący równolegle z detektorem wychwytu elektronów i detektorem azotowo-fosforowym (GC-ECD/NPD).

W badaniach skoncentrowano się na możliwości jednoczesnego oznaczenia jak największej liczby związków, ponieważ obecny rozwój metod analitycznych skupia się głównie na poszerzaniu zakresu badanych związków, a także na poszukiwaniu metod pozwalających na obniżenie ich granic oznaczalności. Walidację metody przeprowadzono dla 160 s.cz., zarówno „trudnych" do oznaczenia z punktu widzenia chromatograficznego, jak i niesprawiających problemów w analizie. Do tych „trudnych" należy zaliczyć chlorotalonil, pirymetanil i pirymikarb, które mają tendencję do tzw. ogonowania pików; dikofol, który rozkłada się pod wpływem podwyższonego pH, światła lub temperatury; folpet, kaptan, dichlofluanid i tolilofluanid, które są niestabilne ze względu na hydrolizę grupy $–SCX_3$ w środowisku zasadowym oraz pimetrozynę, która jest związkiem ulegającym degradacji w środowisku kwasowym. Ze względu na trudności analityczne dla wielu z tych związków stosuje się metody pojedyncze (EURL 2021). Większość z badanych związków stanowiły insektycydy (74 związki). Wśród nich znajdowały się substancje wycofane z obrotu ze względu na ich szkodliwe działanie na środowisko, ludzi i zwierzęta (np. DDT). Mniejszą grupę stanowiły fungicydy (55 związków). Pozostałości tych substancji mogą być najczęściej wykrywane w płodach rolnych ze względu na to, że w sezonie wegetacyjnym zabiegi fungicydowe można wykonywać wielokrotnie, a często nawet, krótko przed zbiorem. Zbadano również 23 związki z grupy herbicydów, które zwykle oznaczane są za pomocą chromatografii cieczowej. Najmniejszą grupę badanych s.cz. stanowiły związki z grupy akarycydów (6 związków) oraz 2 regulatory wzrostu roślin. Ze względu na odmienne właściwości fizykochemiczne, nie wszystkie s.cz. oznaczono na obydwu detektorach. Większość z nich, 95 spośród 160, oznaczono na detektorach EC i NP, 38 związków oznaczono tylko na ECD, natomiast 27 – na NPD. Wykaz badanych s.cz. ze szczegółowym podziałem ich zastosowania oraz sposobu oznaczania przedstawiono w tabeli 1.

Metodę poddano walidacji w reprezentatywnych matrycach o wysokiej zawartości wody (jabłka) oraz o wysokiej kwasowości i wysokiej zawartości wody (truskawki). Sposób i zakres walidacji został ustalony na podstawie wytycznych SANTE/11945/2015 (Guidance 2015). Wyniki badań

Tabela 1. Wykaz oznaczanych substancji czynnych
Table 1. List of analysed active substances

Mechanizm działania (ilość badanych związków) Mode of action (number of tested compounds)	Substancja czynna − Active substance
Akarycydy Acaricides (6)	acrinathrin[1,2], bromopropylate[1], dicofol[1], fenazaquin[2], tebufenpyrad[1,2], tetradifon[1]
Insektycydy Insecticides (74)	acetamiprid[1,2], aldrin[1], azinphos-ethyl[1,2], azinphos-methyl[1,2], bifenthrin[1], bromophos-ethyl[1,2], bromophos-methyl[1,2], buprofezin[1,2], carbaryl[2], carbofuran[2], chlorfenvinphos[1,2], chlorpyrifos[1,2], chlorpyrifos-methyl[1,2], cyfluthrin[1], beta-cyfluthrin[1], lambda-cyhalothrin[1,2], cypermethrin[1], alpha-cypermetrin[1], zeta-cypermethrin[1], deltamethrin[1], diazinon[1,2], dichlorvos[1,2], dichlorvos[1,2], dieldrin[1], dimethoate[1,2], p,p'-DDD[1], p,p'-DDE[1], o,p'-DDT[1], p,p'-DDT[1], alpha-endosulfan[1], beta-endosulfan[1], endosulfan-sulphate[1], endrin[1], esfenvalerate[1], ethion[1,2], ethoprophos[1,2], fenchlorophos[1,2], fenitrothion[1,2], fenpropathrin[1,2], fenthion[2], fenvalerate[1], fipronil[1,2], formothion[1,2], alpha-HCH[1], beta-HCH[1], gamma-HCH (lindane)[1], heptachlor endo-epoxide[1], heptachlor exo-epoxide[1], heptachlor[1], heptenophos[2], isofenphos[1,2], isofenphos-methyl[1,2], malathion[1,2], mecarbam[1,2], methacrifos[1,2], methidathion[1,2], methoxychlor[1], monocrotophos[2], omethoate[2], parathion[1,2], parathion-methyl[1,2], permethrin[1], phosalone[1,2], phosmet[1,2], pirimicarb[2], pirimiphos-ethyl[2], pirimiphos-methyl[2], profenofos[1,2], propoxur[2], pymetrozine[2], pyridaben[1,2], quinalphos[1,2], tebuconazole[2], tetrachlorvinphos[1,2], triazophos[2]
Fungicydy Fungicides (55)	azaconazole[1,2], azoxystrobin[1,2], boscalid[1,2], bromuconazole[1,2], bupirimate[1,2], captafol[1], captan[1], chlorothalonil[1,2], cyproconazole[1,2], cyprodinil[2], dichlofluanid[1,2], dicloran[1,2], difenoconazole[1,2], dimoxystrobin[1,2], diniconazole[1,2], epoxiconazole[1,2], etaconazole[1,2], fenarimol[1,2], fenbuconazole[1,2], fenpropimorph[2], fludioxonil[1,2], fluoxastrobin[1,2], fluquinconazole[1,2], flusilazole[2], flutriafol[2], folpet[1], hexachlorobenzene (HCB)[1], imazalil[1,2], imibenconazole[1,2], kresoxim-methyl[1,2], mepanipyrim[2], metalaxyl[2], metalaxyl-M[2], metconazole[1,2], myclobutanil[1,2], oxadixyl[1,2], penconazole[1,2], pencycuron[1,2], prochloraz[1,2], procymidone[1,2], propiconazole[1,2], pyraclostrobin[1,2], pyrazophos[1,2], pyrimethanil[2], quinoxyfen[1,2], quintozene[1], spiroxamine[2], tecnazene[1], tetraconazole[1,2], tolclofos-methyl[1,2], tolylfluanid[1,2], triadimefon[1,2], triadimenol[1,2], trifloxystrobin[1,2], vinclozolin[1,2]
Herbicydy Herbicides (23)	acetochlor[1,2], atrazine[1,2], bromacil[1,2], chlorpropham[2], cyanazine[1,2], cyprazine[1,2], flufenacet[1,2], lenacil[2], metazachlor[1,2], metribuzin[1,2], napropamide[2], nitrofen[1], pendimethalin[1,2], procyazine[1,2], prometryn[2], propachlor[1,2], propazine[1,2], propham[2], propyzamide[1,2], simazine[1,2], terbuthylazine[1,2], terbutryn[1,2], trifluralin[1,2]
Regulatory wzrostu Growth regulators (2)	diphenylamine[1,2], paclobutrazol[1,2]

Związki oznaczane techniką: [1]GC-ECD, [2]GC-NPD − Compounds analysed by the technique: [1]GC-ECD, [2]GC-NPD

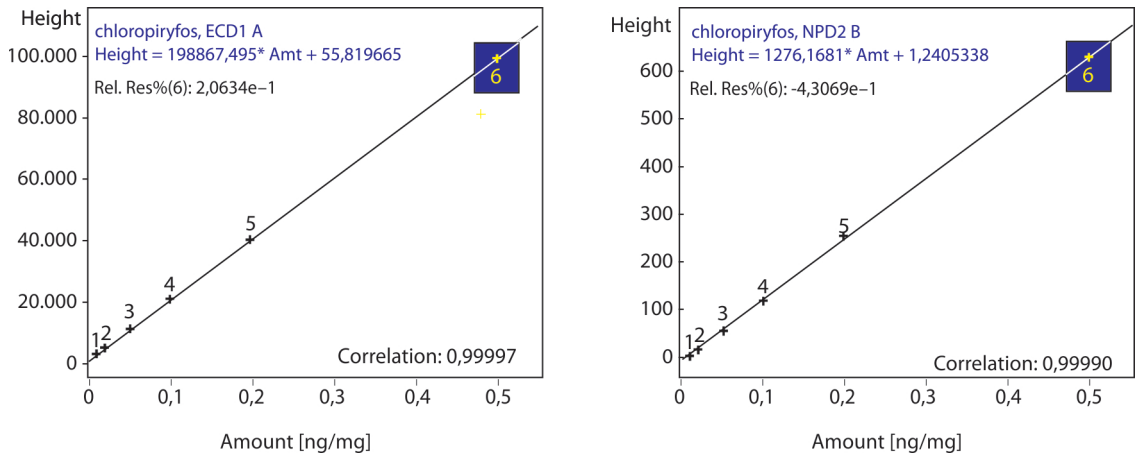
oceniono na podstawie wyznaczonych parametrów walidacyjnych – liniowość odpowiedzi detektora, poprawność, precyzja oraz niepewność rozszerzona. Wartość NDP dla wielu badanych s.cz. wynosi 0,01 mg/kg, a wartość granicy oznaczalności powinna być mniejsza lub równa NDP. Badania pozwoliły dla większości z nich tę granicę ustalić na poziomie 0,005 lub 0,01 mg/kg.

W przypadku jabłek, w sprawdzanym zakresie stężeń dla prawie wszystkich badanych związków wyznaczone krzywe kalibracyjne w matrycy stanowiły zależność liniową dla co najmniej jednego detektora (wyjątek stanowiły związki – acetamipryd, dichlorfos, kaptafol, metakryfos, pimetrozyna i teknazen, które nie uzyskały oczekiwanej liniowości). Brak liniowości dla oznaczeń techniką GC-NPD zaobserwowano w przypadku związków, takich jak: bromacyl, fluoksastrobina i piraklostrobina, podczas gdy na detektorze EC liniowość tych związków była bardzo dobra. Natomiast w przypadku związków – fenbukonazol, tebufenpyrad i terbutryna, nie uzyskano liniowości dla oznaczeń techniką GC-ECD. W przypadku truskawek sytuacja wyglądała inaczej. Związki, które nie uzyskały liniowości w pełnym zakresie to acetamipryd, pimetrozyna i pirymifos etylowy. Brak liniowości na detektorze NP obserwowano dla związków – fosmet, imibenkonazol, pirydaben i tolilofluanid, a na detektorze EC – fludioksonil, pencykuron i terbutryna. Liniowość w niepełnym zakresie odnotowano dla następujących związków: diazynon, trifloksystrobina i trifluralina (oznaczenie techniką GC-NPD), dichlorfos, fenbukonazol, kwinalfos i metkonazol (oznaczenie techniką GC-ECD). Współczynniki korelacji krzywych były zadowalające i mieściły się w zakresie 0,995−0,999.

Na rysunku 1. przedstawiono przykładowe krzywe kalibracyjne (detektor EC oraz NP) dla reprezentatywnego związku pochodzącego z grupy insektycydów.

Zestawienie parametrów metody (średni odzysk z próbek wzbogaconych, względne odchylenie standardowe oraz granice oznaczalności) uzyskanych podczas walidacji pod kątem badania pestycydów w owocach o wysokiej zawartości wody (jabłka) przedstawiono w tabeli 2.

Poprawność i precyzja metody wyznaczone dla 135 związków na wszystkich badanych poziomach wzbogacenia spełniały kryteria określone w dokumencie



Rys. 1. Krzywe kalibracyjne chloropiryfosu w ekstrakcie z matrycy uzyskane techniką GC-ECD/NPD
Fig. 1. Matrix-matched calibration of chlorpyrifos obtained by GC-ECD/NPD technique

Tabela 2. Wyniki walidacji dla próbek jabłek uzyskane na dwóch detektorach w zakresie stężeń 0,005–0,02 mg/kg
Table 2. Validation results for apple samples obtained on two detectors in the concentration range of 0.005–0.02 mg/kg

Lp. No.	Związki Coumpounds	Jabłka – Apple						
		granica oznaczalności limit of quantification [mg/kg]	odzysk i względne odchylenie standardowe recoveries and relative standard deviation [%]					
			GC-ECD			GC-NPD		
			0,005 mg/kg	0,01 mg/kg	0,02 mg/kg	0,005 mg/kg	0,01 mg/kg	0,02 mg/kg
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	Acetamiprid	–	–	NSW[1]	NSW	–	NSW	NSW
2.	Acetochlor	0,01	–	105±8	74±10	–	94±13	107±6
3.	Acrinathrin	0,01	–	108±3	103±2	–	114±11	85±6
4.	Aldrin	0,005	109±7	93±7,3	–	–	–	–
5.	Atrazine	0,01	–	122±2	115±14	–	120±8	106±8
6.	Azaconazole	0,01	–	90±11	74±9	–	79±11	71±8
7.	Azinphos-ethyl	0,01	–	105±4	97±7	–	107±5	97±8
8.	Azinphos-methyl	0,01	–	116±8	100±10	–	113±6	98±9
9.	Azoxystrobin	0,01	–	135±4	107±5	–	112±5	85±13
10.	Bifenthrin	0,01	–	117±10	117±5	–	–	–
11.	Boscalid	0,01	–	63±14	73±9	–	73±10	88±12
12.	Bromacil	0,01	–	85±10	78±12	–	NSW	NSW
13.	Bromophos-ethyl	0,01	–	96±3	97±3	–	91±3	98±3
14.	Bromophos-methyl	0,01	–	100±3	91±6	–	102±4	93±6
15.	Bromopropylate	0,01	–	114±6	102±10	–	–	–
16.	Bromuconazole	0,01	–	125±5	113±6	–	126±9	118±7
17.	Bupirimate	0,01	–	103±10	70±5	–	111±10	70±1
18.	Buprofezin	0,01	–	80±6	91±7	–	87±7	94±7
19.	Captafol	–	–	NSW	NSW	–	–	–
20.	Captan	0,01	140±3	109±3	–	–	–	–
21.	Carbaryl	–	–	–	–	–	138±11	129±4
22.	Carbofuran	0,01	–	–	–	–	120±4	91±9
23.	Chlorfenvinphos	0,01	–	116±6	95±6	–	111±5	96±6
24.	Chlorothalonil	0,01	–	75±11	66±13	–	106±14	93±11
25.	Chlorpropham	0,01	–	–	–	–	112±11	98±11

Tabela 2. Wyniki walidacji dla próbek jabłek uzyskane na dwóch detektorach w zakresie stężeń 0,005–0,02 mg/kg – cd.
Table 2. Validation results for apple samples obtained on two detectors in the concentration range of 0.005–0.02 mg/kg – continued

1	2	3	4	5	6	7	8	9
26.	Chlorpyrifos	0,01	–	87±14	100±13	–	90±15	101±13
27.	Chlorpyrifos-methyl	0,01	–	99±6	83±9	–	94±6	83±9
28.	Cyanazine	0,01	–	94±7	91±7	–	98±7	89±10
29.	Cyfluthrin	0,01	–	71±9	88±3	–	–	–
30.	beta-Cyfluthrin	0,005	88±4	95±2	–	–	–	–
31.	Cypermethrin	0,01	–	95±8	90±8	–	–	–
32.	alpha-Cypermetrin	0,01	–	97±6	99±7	–	–	–
33.	zeta-Cypermethrin	0,01	–	60±16	98±9	–	–	–
34.	Cyprazine	0,01	–	116±14	117±1	–	92±6	87±12
35.	Cyproconazole	0,01	–	91±8	87±6	–	130±4	113±5
36.	Cyprodinil	0,01	–	–	–	–	77±8	78±7
37.	p,p'-DDD	0,005	81±7	88±2	–	–	–	–
38.	p,p'-DDE	0,005	84±5	77±2	–	–	–	–
39.	o,p'-DDT	0,01	138±2	96±7	–	–	–	–
40.	p,p'-DDT	0,01	164±2	115±9	–	–	–	–
41.	Deltamethrin	0,01	–	95±3	94±4	–	–	–
42.	Diazinon	0,01	–	94±13	80±3	–	74±7	64±12
43.	Dichlofluanid	0,01	–	77±10	72±2	–	74±5	71±1
44.	Dichlorvos	–	–	NSW	NSW	–	NSW	NSW
45.	Dicloran	0,01	–	83±4	86±5	–	137±7	115±7
46.	Dicofol	0,01	–	100±4	102±3	–	–	–
47.	Dieldrin	0,005	71±8	79±3	–	–	–	–
48.	Difenoconazole	0,01	–	119±6	91±12	–	104±6	111±3
49.	Dimethoate	0,01	–	114±6	103±6	–	119±7	104±7
50.	Dimoxystrobin	0,01	–	130±7	92±9	–	117±6	95±9
51.	Diniconazole	0,01	–	113±6	84±7	–	120±4	89±6
52.	Diphenylamine	0,01	–	92±5	100±7	–	62±6	67±13
53.	alpha-Endosulfan	0,005	73±6	88±4	–	–	–	–
54.	beta-Endosulfan	0,005	73±4	85±5	–	–	–	–
55.	Endosulfan-sulfate	0,005	75±5	84±5	–	–	–	–
56.	Endrin	0,005	84±6	80±3	–	–	–	–
57.	Epoxiconazole	0,01	–	68±4	68±5	–	72±4	72±3
58.	Esfenvalerate	0,01	–	97±2	100±6	–	–	–
59.	Etaconazole	0,01	–	117±3	97±7	–	112±10	102±7
60.	Ethion	0,01	–	103±4	94±4	–	107±4	98±5
61.	Ethoprophos	0,01	–	111±12	97±14	–	85±8	88±12
62.	Fenarimol	0,01	–	89±4	85±4	–	90±4	89±5
63.	Fenazaquin	0,01	–	–	–	–	76±10	80±7
64.	Fenbuconazole	0,01	–	NSW	NSW	–	115±6	95±12
65.	Fenchlorophos	0,01	–	100±4	90±5	–	101±3	91±5
66.	Fenitrothion	0,01	–	90±12	75±10	–	102±5	84±8
67.	Fenpropathrin	0,01	–	85±7	97±3	–	64±14	85±12
68.	Fenpropimorph	0,01	–	–	–	–	113±13	99±7
69.	Fenthion	0,01	–	–	–	–	102±7	92±7
70.	Fenvalerate	0,01	–	74±8	97±4	–	–	–

Tabela 2. Wyniki walidacji dla próbek jabłek uzyskane na dwóch detektorach w zakresie stężeń 0,005–0,02 mg/kg – cd.
Table 2. Validation results for apple samples obtained on two detectors in the concentration range of 0.005–0.02 mg/kg – continued

1	2	3	4	5	6	7	8	9
71.	Fipronil	0,01	–	117±3	98±6	–	102±10	103±12
72.	Fludioxonil	0,01	–	215±3	100±2	–	93±4	93±3
73.	Flufenacet	0,01	–	114±4	98±6	–	91±15	88±9
74.	Fluoxastrobin	0,01	–	76±6	86±4	–	NSW	NSW
75.	Fluquinconazole	0,01	–	71±9	75±8	–	70±12	72±13
76.	Flusilazole	0,01	–	–	–	–	108±9	94±6
77.	Flutriafol	0,01	–	–	–	–	113±8	104±7
78.	Folpet	0,01	152±5	120±2	–	–	–	–
79.	Formothion	0,01	–	90±7	75±9	–	83±8	72±10
80.	alpha-HCH	0,005	82±6	73±4	–	–	–	–
81.	beta-HCH	–	334±3	188±5	–	–	–	–
82.	gamma-HCH (Lindane)	0,005	82±7	77±13	–	–	–	–
83.	Heptachlor	0,005	77±7	67±3	–	–	–	–
84.	Heptachlor endo-epoxide	0,005	74±9	77±3	–	–	–	–
85.	Heptachlor exo-epoxide	0,005	74±11	76±4	–	–	–	–
86.	Heptenophos	0,01	–	–	–	–	86±12	70±7
87.	Hexachlorobenzene (HCB)	0,005	67±9	61±5	–	–	–	–
88.	Imazalil	–	–	174±2	140±6	–	157±13	125±1
89.	Imibenconazole	0,01	–	100±6	89±11	–	97±13	97±4
90.	Isofenphos	0,005	88±10	106±13	–	98±3	101±3	–
91.	Isofenphos-methyl	0,005	113±13	96±12	–	97±2	100±3	–
92.	Kresoxim-methyl	0,01	–	98±5	91±5	–	93±12	86±8
93.	lambda-Cyhalothrin	0,01	–	106±5	89±7	–	97±12	101±3
94.	Lenacil	0,01	–	–	–	–	125±4	99±5
95.	Malathion	0,01	–	104±4	90±6	–	101±4	86±7
96.	Mecarbam	0,01	–	79±6	90±4	–	76±4	89±4
97.	Mepanipyrim	0,01	–	–	–	–	80±7	92±9
98.	Metalaxyl	0,01	–	–	–	–	65±7	72±10
99.	Metalaxyl-M	0,01	–	–	–	–	87±17	87±13
100.	Metazachlor	0,01	–	117±3	95±9	–	85±11	77±14
101.	Metconazole	0,01	–	120±6	97±6	–	114±4	97±6
102.	Methacrifos	–	–	NSW	NSW	–	NSW	NSW
103.	Methidathion	0,01	–	102±6	92±8	–	103±6	93±8
104.	Methoxychlor	0,005	128±4	117±8	–	–	–	–
105.	Metribuzin	0,01	–	106±4	87±9	–	104±5	86±13
106.	Monocrotophos	–	–	–	–	–	262±8	189±15
107.	Myclobutanil	0,01	–	108±6	103±9	–	86±9	90±10
108.	Napropamide	0,01	–	–	–	–	108±6	104±7
109.	Nitrofen	0,01	–	103±3	99±5	–	–	–
110.	Omethoate	–	–	–	–	–	263±7	187±15
111.	Oxadixyl	–	–	181±11	137±7	–	169±9	133±9
112.	Paclobutrazol	0,01	–	87±11	91±10	–	99±4	85±11
113.	Parathion	0,01	–	82±19	88±15	–	74±20	91±7
114.	Parathion-methyl	0,01	–	110±5	100±9	–	104±5	90±7
115.	Penconazole	0,01	–	145±7	84±8	–	112±9	110±3
116.	Pencycuron	0,01	–	105±11	102±1	–	77±9	92±8

Tabela 2. Wyniki walidacji dla próbek jabłek uzyskane na dwóch detektorach w zakresie stężeń 0,005–0,02 mg/kg – cd.
Table 2. Validation results for apple samples obtained on two detectors in the concentration range of 0.005–0.02 mg/kg – continued

1	2	3	4	5	6	7	8	9
117.	Pendimethalin	0,01	–	63±9	89±4	–	83±14	105±4
118.	Permethrin	0,01	–	68±11	94±5	–	–	–
119.	Phosalone	0,01	–	96±3	91±4	–	89±3	92±5
120.	Phosmet	0,01	–	79±10	73±6	–	73±10	81±15
121.	Pirimicarb	0,01	–	–	–	–	79±9	71±14
122.	Pirimiphos-ethyl	0,01	–	–	–	–	84±8	78±13
123.	Pirimiphos-methyl	0,01	–	–	–	–	71±12	77±7
124.	Prochloraz	0,005	103±14	108±6	–	89±4	77±13	–
125.	Procyazine	0,02	–	132±3	110±6	–	147±4	116±6
126.	Procymidone	0,01	–	84±5	92±5	–	87±10	97±8
127.	Profenofos	0,01	–	106±4	95±6	–	106±4	95±7
128.	Prometryn	0,01	–	–	–	–	118±6	99±7
129.	Propachlor	0,01	–	75±11	74±5	–	119±12	92±13
130.	Propazine	0,01	–	94±11	99±7	–	82±9	84±8
131.	Propham	0,01	–	–	–	–	79±8	79±6
132.	Propiconazole	0,01	–	118±8	83±8	–	95±12	91±7
133.	Propoxur	0,005	118±7	113±5	–	–	–	–
134.	Propyzamide	0,01	–	107±4	101±6	–	104±11	97±10
135.	Pymetrozine	–	–	–	–	–	NSW	NSW
136.	Pyraclostrobin	0,01	–	79±11	77±9	–	NSW	NSW
137.	Pyrazophos	0,01	–	94±6	91±5	–	104±5	97±7
138.	Pyridaben	0,01	–	123±3	119±5	–	112±14	102±14
139.	Pyrimethanil	0,01	–	–	–	–	91±8	82±10
140.	Quinalphos	0,01	–	67±21	107±5	–	73±3	90±4
141.	Quinoxyfen	0,01	–	98±12	73±5	–	103±9	87±12
142.	Quintozene	0,005	90±8	88±5	–	–	–	–
143.	Simazine	0,01	–	107±8	118±7	–	117±4	114±8
144.	Spiroxamine	0,01	–	–	–	–	119±10	95±7
145.	Tebuconazole	0,01	–	–	–	–	106±7	93±5
146.	Tebufenpyrad	0,01	–	NSW	NSW	–	111±7	106±4
147.	Tecnazene	–	–	NSW	NSW	–	–	–
148.	Terbuthylazine	0,01	–	105±4	71±3	–	110±4	100±7
149.	Terbutryn	0,01	–	NSW	NSW	–	103±6	90±10
150.	Tetrachlorvinphos	0,01	–	110±5	93±9	–	107±4	93±8
151.	Tetraconazole	0,01	–	115±4	97±4	–	117±10	97±7
152.	Tetradifon	0,01	–	103±4	94±6	–	–	–
153.	Tolclofos-methyl	0,01	–	85±7	89±9	–	83±4	84±9
154.	Tolylfluanid	0,01	–	93±9	79±4	–	82±9	85±13
155.	Triadimefon	0,01	–	117±7	78±8	–	108±8	81±7
156.	Triadimenol	0,01	–	111±13	119±5	–	120±5	98±6
157.	Triazophos	0,01	–	–	–	–	108±6	95±7
158.	Trifloxystrobin	0,01	–	92±3	93±5	–	107±14	100±5
159.	Trifluralin	0,01	–	73±11	79±14	–	90±9	92±14
160.	Vinclozolin	0,01	–	94±2	94±5	–	111±7	109±7

[1]nie spełnia wymagań walidacyjnych w zakresie liniowości krzywej – not fulfiling the validation requirements for the linearity of the curve

SANTE/11945/2015 (średni odzysk w zakresie 70–120%, RSD nieprzekraczające 20%), uzyskując wartości poprawności: 70−120% i precyzji: 1−19%. Co ważne, dla 66 s.cz. uzyskano właściwe parametry dla oznaczeń chromatograficznych z zastosowaniem dwóch detektorów: EC i NP, natomiast dla 69 związków − z użyciem jednego z nich. Pozostałe związki uzyskały niższe (60−68%) lub wyższe (125−334%) wartości odzysków.

Odzysk powyżej 120% dla najniższego poziomu wzbogacenia na jednym z detektorów zaobserwowano w przypadku następujących związków: atrazyna, azoksystrobina, cyprokonazol, dikloran, dimoksystrobina, fludioksonil, penkonazol i pirydaben, podczas gdy na drugim detektorze odzyski mieściły się w zakresie tolerancji. Odzyski bromukonazolu stanowiły niewielką nadwyżkę dopuszczalnej górnej granicy – 125% dla detektora EC oraz 126% dla detektora NP (precyzja odpowiednio: 5 oraz 9%). Wartość poprawności na najniższym poziomie wzbogacenia dla procyjazyny wynosiła na ECD – 132% (RSD: 3%), a na NPD – 147% (RSD: 4%). Dla związków badanych na jednym detektorze (lenacyl – NP; folpet, o,p'-DDT, p,p'-DDT, kaptan, metoksychlor – EC), wyznaczona wartość poprawności na najniższym poziomie wzbogacenia wynosiła odpowiednio – 125, 152, 138, 164, 140 i 128%, natomiast precyzja wyniku odpowiednio – 4, 5, 2, 2, 3 i 4%. Odzysk karbarylu na poziomach 0,01 i 0,02 mg/kg stanowił odpowiednio 138% (RSD: 11%) i 129% (RSD: 4%). W przypadku takich związków, jak imazalil i oksadiksyl poprawność na poziomie 0,01 mg/kg znacznie przekraczała dopuszczalną wartość (imazalil na ECD – 174%, na NPD – 157%, oksadiksyl na ECD – 181%, na NPD – 169%), natomiast na poziomie wzbogacenia 0,02 mg/kg odzysk dla tych związków wynosił dla imazalilu na ECD – 140% (RSD: 6%), na NPD – 125% (RSD: 1%), dla oksadiksylu na ECD – 137% (RSD: 7%), na NPD – 133% (RSD: 9%). Monokrotofos i ometoat (związki oznaczane wyłącznie na detektorze NP) nie uzyskały oczekiwanych wartości poprawności i precyzji na żadnym z badanych poziomów wzbogacenia (dla poziomu 0,01 mg/kg odpowiednio – 262 i 263%; dla poziomu 0,02 mg/kg – 189 i 187%). Podobnie było w przypadku związku beta-HCH oznaczanego na detektorze EC – poprawność dla poziomu 0,01 mg/kg wynosiła 334%, natomiast dla poziomu 0,02 mg/kg – 188%.

Odzyski nieznacznie poniżej 70% dla jednego z niższych poziomów wzbogacenia (0,005 lub 0,01 mg/kg) odnotowano dla związków, takich jak: boskalid, zeta-cypermetryna, fenpropatryna, HCB, heptachlor, kwinalfos, metalaksyl, pendimetalina oraz permetryna. W przypadku chlorotalonilu i diazynonu, poprawność na poziomie 0,02 mg/kg była zaniżona (odpowiednio: 66 i 64%) na jednym z detektorów, natomiast precyzja była dobra (odpowiednio: 13 i 12%). Dla dwóch związków (difenyloamina oraz epoksykonazol) średnie odzyski na obydwu poziomach wzbogacenia na jednym z detektorów były zaniżone, ale nadal prezentowały dopuszczalne wartości RSD.

Niepewność rozszerzona dla związków, dla których parametry metody, takie jak poprawność i precyzja mieściły się w zakresie tolerancji zadanej przez dokument SANTE /11945/2015, wynosiła pomiędzy 4–45%.

Zestawienie parametrów walidacyjnych metody (średni odzysk z próbek wzbogaconych, względne odchylenie standardowe oraz granice oznaczalności) uzyskanych podczas walidacji pod kątem badania pestycydów w owocach o wysokiej kwasowości oraz wysokiej zawartości wody (truskawki) przedstawiono w tabeli 3.

Poprawność i precyzja metody wyznaczone dla 137 związków na wszystkich badanych poziomach wzbogacenia spełniały kryteria określone w dokumencie SANTE/11945/2015 (średni odzysk w zakresie 70–120%, RSD nieprzekraczająca 20%), uzyskując wartości poprawności: 70–120% i precyzji: 1–19%. Dla 61 s.cz. uzyskano właściwe parametry dla oznaczeń chromatograficznych z zastosowaniem dwóch detektorów: EC i NP, natomiast dla 76 związków z użyciem jednego z nich. Pozostałe związki uzyskały niższe (58−69%) lub wyższe (123−305%) wartości odzysków.

Poprawność powyżej 120% dla najniższego poziomu wzbogacenia na jednym z detektorów zaobserwowano w przypadku następujących związków: akrynatryna, azoksystrobina, buprofezyna, fenarymol, oksadiksyl, pendimetalina, penkonazol, piraklostrobina, prochloraz, propazyna i triadimenol, podczas gdy na drugim detektorze wartości odzysków mieściły się w zakresie tolerancji. Dla s.cz. trifluralina uzyskano zawyżone wartości poprawności na poziomie wzbogacenia 0,02 mg/kg na detektorze NP (138%, RSD: 13%). Dla dimetoatu odzysk na najniższym poziomie wzbogacenia stanowił 123% na ECD oraz 144% na NPD (precyzja odpowiednio – 8 oraz 3%). Dla flusilazolu, flutriafolu, folpetu, karbarylu, pirymetanilu i tebukonazolu, związków badanych na jednym detektorze, wyznaczona wartość poprawności na najniższym poziomie wzbogacenia wynosiła odpowiednio: 163, 123, 137, 145, 124 i 147%, natomiast precyzja wyników była bardzo dobra (odpowiednio – 8, 6, 8, 9, 6 i 11%). Dla fludioksonilu, związku badanego na obydwu detektorach, na NPD wartość odzysku dla poziomu 0,01 mg/kg wynosiła 139% (RSD: 12%), natomiast na ECD związek ten nie uzyskał satysfakcjonującej liniowości, przez co wyniki na tym detektorze nie były oceniane. Związki, takie jak: cyjanazyna i imazalil uzyskały wartość poprawności na najniższym poziomie wzbogacenia (0,01 mg/kg) na obydwu detektorach znacznie powyżej dopuszczalnej normy (odpowiednio: na ECD – 172, 175%; na NPD – 149, 173%) pomimo dobrej precyzji (odpowiednio: ECD – 4, 6%; NPD – 4, 15%). Dla poziomu 0,02 mg/kg związki te uzyskały satysfakcjonujące wartości poprawności i precyzji. Monokrotofos i ometoat uzyskały znacznie przewyższające dopuszczalne normy odzyski na każdym poziomie wzbogacenia.

Tabela 3. Wyniki walidacji dla próbek truskawek uzyskane na dwóch detektorach w zakresie stężeń 0,005–0,02 mg/kg – cd.
Table 3. Validation results for strawberry samples obtained on two detectors in the concentration range of 0.005–0.02 mg/kg – continued

Lp. No.	Związki Coumpounds	Truskawki − Strawberry						
		granica oznaczalności limit of quantification [mg/kg]	odzysk i względne odchylenie standardowe recoveries and relative standard deviation [%]					
			GC-ECD			GC-NPD		
			0,005 mg/kg	0,01 mg/kg	0,02 mg/kg	0,005 mg/kg	0,01 mg/kg	0,02 mg/kg
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	Acetamiprid	–	–	NSW[1]	NSW	–	NSW	NSW
2.	Acetochlor	0,01	–	97±5	76±8	–	80±9	78±8
3.	Acrinathrin	0,01	–	71±11	81±4	–	137±5	89±5
4.	Aldrin	0,005	62±6	73±4	–	–	–	–
5.	Atrazine	0,01	–	107±7	101±4	–	107±6	96±7
6.	Azaconazole	0,01	–	114±6	85±9	–	110±11	84±12
7.	Azinphos-ethyl	0,01	–	71±10	81±12	–	76±9	82±13
8.	Azinphos-methyl	0,01	–	89±11	89±10	–	90±10	92±12
9.	Azoxystrobin	0,01	–	136±8	102±10	–	119±6	101±12
10.	Bifenthrin	0,01	–	101±7	81±7	–	–	–
11.	Boscalid	0,01	–	86±6	71±10	–	81±14	74±15
12.	Bromacil	0,01	–	109±5	93±7	–	113±11	89±7
13.	Bromophos-ethyl	0,01	–	71±11	83±4	–	70±12	84±4
14.	Bromophos-methyl	0,01	–	76±8	88±4	–	77±9	92±5
15.	Bromopropylate	0,01	–	65±11	85±6	–	–	–
16.	Bromuconazole	0,01	–	92±12	83±6	–	97±11	96±8
17.	Bupirimate	0,01	–	68±17	75±16	–	70±8	85±7
18.	Buprofezin	0,01	–	160±41	119±15	–	80±7	78±8
19.	Captafol	0,01	–	78±5	79±8	–	–	–
20.	Captan	0,005	81±12	70±7	–	–	–	–
21.	Carbaryl	0,02	–	–	–	–	145±9	115±7
22.	Carbofuran	0,01	–	–	–	–	100±10	93±10
23.	Chlorfenvinphos	0,01	–	80±11	93±11	–	83±11	98±11
24.	Chlorothalonil	0,01	–	83±11	74±15	–	75±10	88±17
25.	Chlorpropham	0,01	–	–	–	–	116±4	109±9
26.	Chlorpyrifos	0,01	–	92±8	81±7	–	107±7	87±7
27.	Chlorpyrifos-methyl	0,01	–	88±5	92±3	–	83±5	91±3
28.	Cyanazine	0,02	–	172±4	115±2	–	149±4	118±6
29.	Cyfluthrin	0,01	–	83±9	91±6	–	–	–
30.	beta-Cyfluthrin	0,005	113±7	87±6	–	–	–	–
31.	Cypermethrin	0,01	–	93±9	86±8	–	–	–
32.	alpha-Cypermetrin	0,01	–	101±13	77±8	–	–	–
33.	zeta-Cypermethrin	0,01	–	88±8	99±7	–	–	–
34.	Cyprazine	0,01	–	115±5	102±8	–	86±4	81±9
35.	Cyproconazole	0,01	–	112±11	103±11	–	118±7	93±7
36.	Cyprodinil	0,01	–	–	–	–	105±14	99±13
37.	p,p'-DDD	0,005	87±10	87±4	–	–	–	–
38.	p,p'-DDE	0,005	75±9	83±8	–	–	–	–
39.	o,p'-DDT	0,005	72±12	90±12	–	–	–	–
40.	p,p'-DDT	0,005	89±10	94±13	–	–	–	–
41.	Deltamethrin	0,01	–	102±10	78±6	–	–	–

Tabela 3. Wyniki walidacji dla próbek truskawek uzyskane na dwóch detektorach w zakresie stężeń 0,005–0,02 mg/kg – cd.
Table 3. Validation results for strawberry samples obtained on two detectors in the concentration range of 0.005–0.02 mg/kg – continued

1	2	3	4	5	6	7	8	9
42.	Diazinon	0,01	–	77±3	85±2	–	NSW	56±17
43.	Dichlofluanid	0,01	–	100±8	75±7	–	94±9	72±8
44.	Dichlorvos	0,01	–	NSW	108±7	–	90±4	89±9
45.	Dicloran	0,01	–	80±10	77±8	–	97±11	93±8
46.	Dicofol	0,01	–	73±7	87±1	–	–	–
47.	Dieldrin	0,005	101±15	85±5	–	–	–	–
48.	Difenoconazole	0,01	–	81±12	87±11	–	82±9	91±10
49.	Dimethoate	0,01	–	123±8	96±10	–	144±3	101±10
50.	Dimoxystrobin	0,01	–	76±8	85±11	–	73±12	90±5
51.	Diniconazole	0,01	–	81±10	80±12	–	86±10	85±11
52.	Diphenylamine	0,01	–	107±15	102±13	–	70±11	70±12
53.	alpha-Endosulfan	0,005	85±5	81±7	–	–	–	–
54.	beta-Endosulfan	0,005	80±7	80±7	–	–	–	-
55.	Endosulfan-sulfate	0,005	67±7	70±9	–	–	–	–
56.	Endrin	0,005	75±15	84±7	–	–	–	–
57.	Epoxiconazole	0,01	–	87±5	78±6	–	104±10	106±3
58.	Esfenvalerate	0,01	–	100±12	75±9	–	–	–
59.	Etaconazole	0,01	–	91±9	87±9	–	104±10	73±7
60.	Ethion	0,01	–	82±8	88±9	–	75±10	93±6
61.	Ethoprophos	0,01	–	87±13	116±6	–	70±5	78±5
62.	Fenarimol	0,01	–	99±7	83±12	–	127±13	93±12
63.	Fenazaquin	0,01	–	–	–	–	113±11	92±13
64.	Fenbuconazole	0,01	–	NSW	106±7	–	119±8	97±7
65.	Fenchlorophos	0,01	–	76±7	91±5	–	75±9	91±6
66.	Fenitrothion	0,01	–	78±7	86±2	–	89±6	96±2
67.	Fenpropathrin	0,01	–	80±6	88±7	–	113±4	110±6
68.	Fenpropimorph	0,01	–	–	–	–	86±11	73±12
69.	Fenthion	0,01	–	–	–	–	71±10	76±10
70.	Fenvalerate	0,01	–	101±12	93±6	–	–	–
71.	Fipronil	0,01	–	94±7	90±8	–	105±6	96±10
72.	Fludioxonil	0,02	–	NSW	NSW	–	139±12	116±11
73.	Flufenacet	0,01	–	92±7	90±6	–	93±11	88±4
74.	Fluoxastrobin	0,01	–	95±7	74±6	–	119±5	119±5
75.	Fluquinconazole	0,01	–	71±7	70±12	–	112±9	119±4
76.	Flusilazole	0,02	–	–	–	–	163±8	125±9
77.	Flutriafol	0,01	–	–	–	–	123±6	90±7
78.	Folpet	0,01	137±8	102±7	–	–	–	–
79.	Formothion	0,01	–	96±9	91±8	–	84±10	85±8
80.	alpha-HCH	0,005	77±9	82±5	–	–	–	–
81.	beta-HCH	0,005	72±8	84±5	–	–	–	–
82.	gamma-HCH (Lindane)	0,005	114±9	87±5	–	–	–	–
83.	Heptachlor	0,005	76±14	79±4	–	–	–	–
84.	Heptachlor endo-epoxide	0,005	76±11	79±6	–	–	–	–
85.	Heptachlor exo-epoxide	0,005	83±11	84±5	–	–	–	–
86.	Heptenophos	0,01	–	–	–	–	87±9	94±8

Tabela 3. Wyniki walidacji dla próbek truskawek uzyskane na dwóch detektorach w zakresie stężeń 0,005–0,02 mg/kg – cd.
Table 3. Validation results for strawberry samples obtained on two detectors in the concentration range of 0.005–0.02 mg/kg – continued

1	2	3	4	5	6	7	8	9
87.	Hexachlorobenzene (HCB)	0,005	58±8	69±3	–	–	–	–
88.	Imazalil	0,02	–	175±6	125±2	–	173±15	116±7
89.	Imibenconazole	0,01	–	94±7	73±9	–	NSW	NSW
90.	Isofenphos	0,005	92±12	61±7	–	81±13	86±5	–
91.	Isofenphos-methyl	0,005	108±7	100±3	–	72±12	82±3	–
92.	Kresoxim-methyl	0,01	–	87±8	93±10	–	70±13	92±12
93.	lambda-Cyhalothrin	0,01	–	85±6	89±7	–	92±14	80±10
94.	Lenacil	0,01	–	–	–	–	107±12	98±8
95.	Malathion	0,01	–	81±9	94±5	–	84±8	92±4
96.	Mecarbam	0,01	–	76±10	76±10	–	73±10	76±8
97.	Mepanipyrim	0,01	–	–	–	–	104±4	89±7
98.	Metalaxyl	0,01	–	–	–	–	91±10	68±15
99.	Metalaxyl-M	0,01	–	–	–	–	118±11	86±13
100.	Metazachlor	0,01	–	93±6	86±11	–	93±13	77±10
101.	Metconazole	0,01	–	NSW	85±12	–	95±9	92±11
102.	Methacrifos	0,01	–	73±5	79±5	–	64±6	71±11
103.	Methidathion	0,01	–	90±13	108±11	–	85±10	92±9
104.	Methoxychlor	0,005	73±19	94±17	–	–	–	–
105.	Metribuzin	0,01	–	94±5	88±6	–	89±8	85±8
106.	Monocrotophos	–	–	–	–	–	305±9	221±12
107.	Myclobutanil	0,01	–	89±17	75±14	–	91±9	70±9
108.	Napropamide	0,01	–	–	–	–	108±12	98±10
109.	Nitrofen	0,01	–	101±3	97±4	–	–	–
110.	Omethoate	–	–	–	–	–	260±11	163±9
111.	Oxadixyl	0,01	–	97±7	103±13	–	168±10	119±4
112.	Paclobutrazol	0,01	–	105±18	92±15	–	73±15	54±9
113.	Parathion	0,01	–	77±7	84±8	–	83±6	83±8
114.	Parathion-methyl	0,01	–	100±9	109±10	–	81±12	96±7
115.	Penconazole	0,01	–	85±11	86±10	–	130±10	118±9
116.	Pencycuron	0,01	–	NSW	NSW	–	90±11	78±7
117.	Pendimethalin	0,01	–	76±10	84±8	–	123±5	113±10
118.	Permethrin	0,01	–	88±8	101±6	–	–	–
119.	Phosalone	0,01	–	110±5	85±7	–	113±6	91±7
120.	Phosmet	0,01	–	94±5	73±6	–	NSW	NSW
121.	Pirimicarb	0,01	–	–	–	–	112±7	96±9
122.	Pirimiphos-ethyl	–	–	–	–	–	NSW	NSW
123.	Pirimiphos-methyl	0,01	–	–	–	–	114±7	89±7
124.	Prochloraz	0,005	105±5	84±4	–	131±6	93±11	–
125.	Procyazine	0,01	–	102±10	98±8	–	100±9	95±8
126.	Procymidone	0,01	–	108±5	86±9	–	115±13	116±4
127.	Profenofos	0,01	–	84±10	93±7	–	87±10	95±7
128.	Prometryn	0,01	–	–	–	–	103±8	92±8
129.	Propachlor	0,01	–	91±6	94±5	–	112±11	94±9
130.	Propazine	0,01	–	363±9	119±4	–	90±8	82±5
131.	Propham	0,01	–	–	–	–	88±9	89±6

Tabela 3. Wyniki walidacji dla próbek truskawek uzyskane na dwóch detektorach w zakresie stężeń 0,005–0,02 mg/kg – cd.
Table 3. Validation results for strawberry samples obtained on two detectors in the concentration range of 0.005–0.02 mg/kg – continued

1	2	3	4	5	6	7	8	9
132.	Propiconazole	0,01	–	88±13	89±10	–	86±8	87±10
133.	Propoxur	0,005	87±12	90±9	–	–	–	–
134.	Propyzamide	0,01	–	102±6	103±6	–	98±9	93±10
135.	Pymetrozine	–	–	–	–	–	NSW	NSW
136.	Pyraclostrobin	0,01	–	137±8	102±12	–	90±9	113±6
137.	Pyrazophos	0,01	–	55±12	77±15	–	72±8	79±15
138.	Pyridaben	0,01	–	92±5	80±10	–	NSW	NSW
139.	Pyrimethanil	0,01	–	–	–	–	124±6	94±8
140.	Quinalphos	0,01	–	NSW	108±13	–	74±9	78±9
141.	Quinoxyfen	0,01	–	120±7	111±8	–	92±15	76±9
142.	Quintozene	0,005	64±12	65±10	–	–	–	–
143.	Simazine	0,01	–	101±5	90±9	–	111±8	99±10
144.	Spiroxamine	0,01	–	–	–	–	108±5	89±12
145.	Tebuconazole	0,02	–	–	–	–	147±11	106±10
146.	Tebufenpyrad	0,01	–	117±14	112±13	–	119±11	90±8
147.	Tecnazene	–	–	53±34	62±24	–	–	–
148.	Terbuthylazine	0,01	–	77±6	111±2	–	94±7	91±6
149.	Terbutryn	0,01	–	NSW	NSW	–	78±12	80±10
150.	Tetrachlorvinphos	0,01	–	89±8	86±11	–	86±9	89±12
151.	Tetraconazole	0,01	–	104±10	84±13	–	84±8	97±5
152.	Tetradifon	0,01	–	68±12	84±8	–	–	–
153.	Tolclofos-methyl	0,01	–	109±12	87±6	–	111±12	87±6
154.	Tolylfluanid	0,01	–	100±10	73±10	–	NSW	NSW
155.	Triadimefon	0,01	–	79±11	88±8	–	80±14	90±9
156.	Triadimenol	0,01	–	108±7	117±8	–	138±13	119±12
157.	Triazophos	0,01	–	–	–	–	83±9	87±10
158.	Trifloxystrobin	0,01	–	120±11	94±7	–	NSW	117±8
159.	Trifluralin	0,01	–	96±9	80±6	–	NSW	138±7
160.	Vinclozolin	0,01	–	105±7	83±8	–	114±11	80±11

[1]nie spełnia wymagań walidacyjnych w zakresie liniowości krzywej – not fulfiling the validation requirements for the linearity of the curve

Odzyski nieznacznie poniżej 70% dla jednego z niższych poziomów wzbogacenia (0,005 lub 0,01 mg/kg) na jednym z detektorów odnotowano dla związków, takich jak: aldryna, bromopropylat, bupirymat, endosulfan siarczan, metakryfos, pirazofos i tetradifon. W przypadku związków diazynon, izofenfos, metalaksyl i paklobutrazol, poprawność na poziomie 0,02 mg/kg była zaniżona (odpowiednio: 56, 61, 68 i 54%) na jednym z detektorów, natomiast precyzja była w granicach normy (odpowiednio: 17, 7, 15 i 9%). Dla dwóch związków (HCB oraz kwintocen) średnie odzyski na obydwu poziomach wzbogacenia były zaniżone, ale nadal prezentowały dopuszczalne wartości RSD. Dla teknazenu poprawność na obydwu detektorach była zaniżona, a średnie odchylenie standardowe miało wartości powyżej 20%.

Niepewność rozszerzona dla związków, dla których parametry metody, takie jak poprawność i precyzja mieściły się w zakresie tolerancji zadanej przez dokument SANTE /11945/2015, wynosiła pomiędzy 5–48%.

Procent związków spełniających i niespełniających kryterium poprawności na poszczególnych poziomach wzbogacenia przedstawiono na rysunku 2. (dla detektora EC) oraz na rysunku 3. (dla detektora NP). Dla porównania zestawiono obydwie badane matryce (jabłka i truskawki) na jednym wykresie.

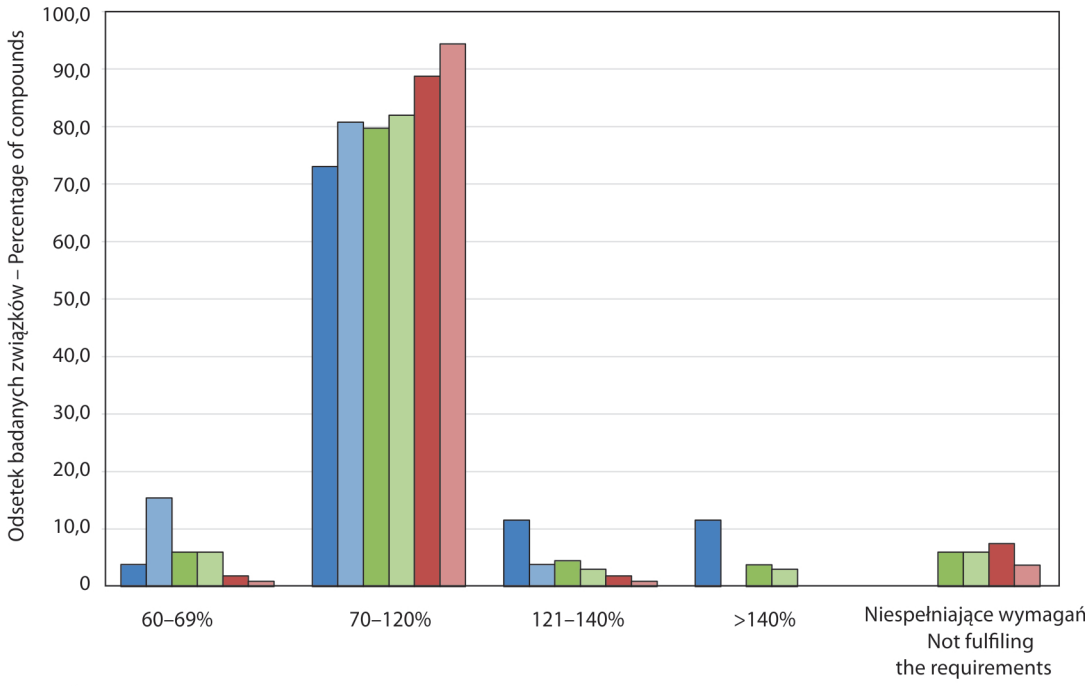
Bardzo dobre wyniki udało się uzyskać dla związków „trudnych" do oznaczenia. Należały do tej grupy związki, takie jak folpet, kaptan, dichlofluanid, tolilofluanid i dikofol ze względu na ich lepszą stabilność w środowisku

kwasowym, które było utrzymywane na każdym etapie analizy.

Walidacja dichlofluanidu i tolilofluanidu przebiegła poprawnie w obu badanych matrycach w zakresie stężeń 0,01−0,02 mg/kg. Dla dichlofluanidu uzyskano bardzo dobre parametry walidacyjne na obydwu detektorach zarówno w jabłkach, jak i truskawkach (jabłka – średni odzysk: 73%, RSD: 5%, truskawki – średni odzysk: 86%, RSD: 8%). Tolilofluanid poddano walidacji dla próbek truskawek tylko z zastosowaniem detektora EC (wykorzystując do oznaczenia detektor NP nie udało się uzyskać zadowalającej liniowości w zakresie badanych stężeń) uzyskując bardzo dobre wartości − średni odzysk: 86%, RSD: 10%, natomiast dla próbek jabłek − z zastosowaniem zarówno detektora EC i NP (średni odzysk: 85%, RSD: 9%). W rezultacie granica oznaczalności dla obydwu związków w tych matrycach została ustalona na niskim poziomie 0,01 mg/kg. Dla porównania norma PN-EN 15662:2008 podaje dane walidacyjne dichlofluanidu tylko dla produktów o wysokiej zawartości wody (zakres: 0,05–1,0 mg/kg, średni odzysk: 90%, RSD: 23%). W przypadku związku tolilofluanid odzysk dla próbek wzbogaconych o wysokiej kwasowości podano tylko dla poziomu 0,1 mg/kg, gdzie uzyskane wyniki były zaniżone (odzysk: 58%, RSD: 8%). Natomiast dane walidacyjne dla produktów o wysokiej zawartości wody w zakresie stężeń 0,01–1,0 mg/kg prezentowały się następująco − odzysk: 90%, RSD: 22%.

Dla dikofolu, pomimo jego nietrwałości, uzyskano doskonałe wartości poprawności w całym badanym zakresie stężeń w jabłkach oraz truskawkach (jabłka – średni odzysk: 101%, RSD: 4%, truskawki – średni odzysk: 80%, RSD: 4%), a jego granicę oznaczalności ustalono na 0,01 mg/kg. W normie PN-EN 15662:2008 dane walidacyjne prezentowały się następująco − dla produktów o wysokiej zawartości wody zakres wynosił 0,01–0,127 mg/kg, średni odzysk: 99%, RSD: 22%, dla produktów o wysokiej kwasowości odpowiednio: 0,01–0,1 mg/kg, 82%, 13%.

Substancje czynne kaptan i folpet badano w zakresie 0,005−0,01 mg/kg. Kaptan w próbkach truskawek uzyskał bardzo dobre wartości poprawności w całym zakresie (średni odzysk: 76%, RSD: 9%), natomiast w próbkach jabłek tylko na poziomie 0,01 mg/kg (odzysk: 109%, RSD:

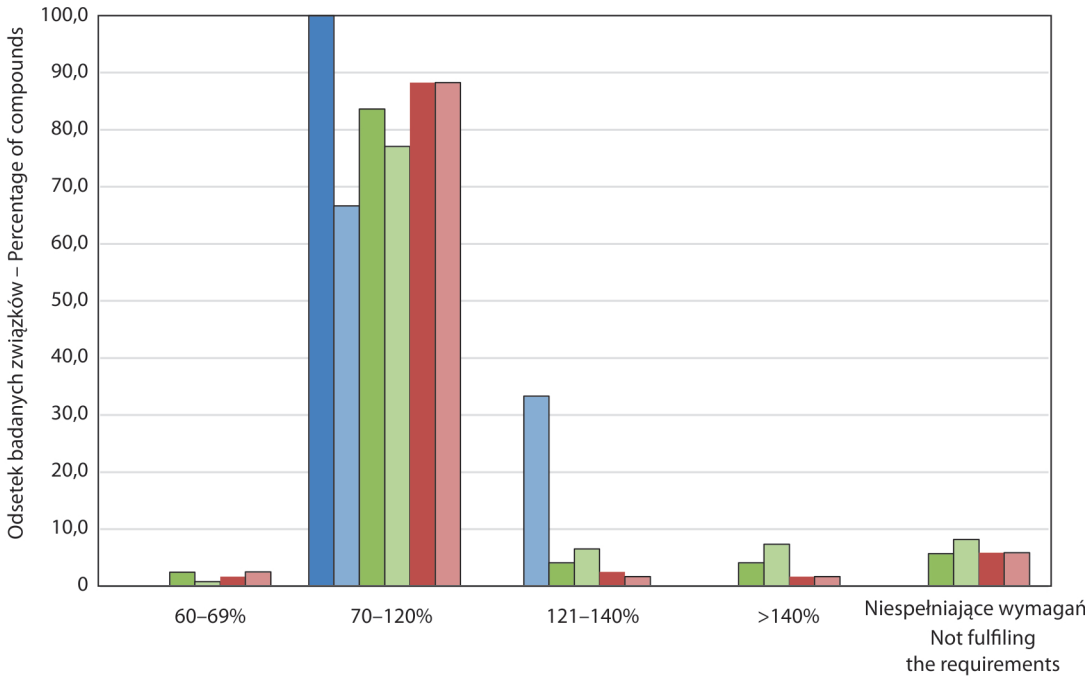


	60–69%	70–120%	121–140%	>140%	Niespełniające wymagań / Not fulfiling the requirements
0,005 mg/kg jabłka[1]	3,8	73,1	11,5	11,5	0
0,005 mg/kg truskawki[2]	15,4	80,8	3,8	0	0
0,01 mg/kg jabłka[1]	6,0	79,7	4,5	3,8	6,0
0,01 mg/kg truskawki[2]	6,0	82,0	3,0	3,0	6,0
0,02 mg/kg jabłka[1]	1,9	88,8	1,9	0	7,5
0,02 mg/kg truskawki[2]	0,9	94,4	0,9	0	3,7

apples[1], strawberry[2]

Rys. 2. Odsetek związków badanych na detektorze EC spełniających i niespełniających kryteria walidacyjne w zakresie odzysków dla obydwu matryc (jabłka, truskawki)

Fig. 2. Percentage of compounds tested on the EC detector fulfiling and not fulfilling the validation criteria for recoveries for both matrices (apples, strawberries)



	60–69%	70–120%	121–140%	>140%	Niespełniające wymagań / Not fulfiling the requirements
0,005 mg/kg jabłka[1]	0	100,0	0	0	0
0,005 mg/kg truskawki[2]	0	66,7	33,3	0	0
0,01 mg/kg jabłka[1]	2,5	83,6	4,1	4,1	5,7
0,01 mg/kg truskawki[2]	0,8	77,0	6,6	7,4	8,2
0,02 mg/kg jabłka[1]	1,7	88,2	2,5	1,7	5,9
0,02 mg/kg truskawki[2]	2,5	88,2	1,7	1,7	5,9

apples[1], strawberry[2]

Rys. 3. Odsetek związków badanych na detektorze NP spełniających i niespełniających kryteria walidacyjne w zakresie odzysków dla obydwu matryc (jabłka, truskawki)

Fig. 3. Percentage of compounds tested on the NP detector fulfiling and not fulfilling the validation criteria for recoveries for both matrices (apples, strawberries)

3%). W rezultacie w próbkach truskawek ustalono granicę oznaczalności równą 0,005 mg/kg, natomiast w próbkach jabłek – 0,01 mg/kg. Dla folpetu uzyskano zadowalające wartości poprawności tylko na poziomie wzbogacenia 0,01 mg/kg w obydwu matrycach (jabłka – odzysk: 120%, RSD: 2%, truskawki – odzysk: 102%, RSD: 7%). W normie PN-EN 15662:2008 w podanych danych walidacyjnych nie można znaleźć tak dobrych granic oznaczalności dla obydwu związków – dla produktów o wysokiej zawartości wody walidację kaptanu przeprowadzono w zakresie 0,05–1,0 mg/kg (odzysk: 90%, RSD: 14%), folpetu: 0,05–0,5 mg/kg (odzysk: 86%, RSD: 18%), a dla produktów o wysokiej kwasowości przeprowadzono walidację wyłącznie dla s.cz. folpet w zakresie 0,1–0,5 mg/kg (odzysk: 67%, RSD: 14%).

Pomimo tendencji do tzw. ogonowania pików takich związków, jak chlorotalonil, pirymetanil i pirymikarb, ich walidacja w obydwu badanych matrycach przebiegła poprawnie. Wyniki w całym badanym zakresie stężeń 0,01−0,02 mg/kg prezentowały się następująco: w próbkach jabłek średni odzysk wynosił 85%, średnie odchylenie standardowe – 12%, natomiast w próbkach truskawek – 80% i 13%. W próbkach jabłek odzysk na poziomie 0,02 mg/kg był nieznacznie zaniżony (66%), jednakże precyzja wyniku (13%) była zadowalająca. Granica oznaczalności osiągnięta dla tego związku wynosiła 0,01 mg/kg zarówno w próbkach jabłek, jak i truskawek. Dane walidacyjne chlorotalonilu przedstawione w normie PN-EN 15662:2008 dla próbek o wysokiej kwasowości podano tylko dla poziomu 0,1 mg/kg (odzysk: 96%, RSD: 3%), natomiast dla próbek o wysokiej zawartości wody w zakresie stężeń 0,01–1,0 mg/kg (odzysk: 76%, RSD: 40%). Pirymetanil i pirymikarb pomyślnie przeszły pełną procedurę walidacyjną (ustalona granica oznaczalności − 0,01 mg/kg). W próbkach jabłek i truskawek wartości poprawności i precyzji w całym badanym zakresie wynosiły odpowiednio: dla pirymetalnilu – 87 (9), 109% (7%), dla pirymikarbu – 75 (11), 104% (8%). Jedynie w próbkach truskawek wzbogaconych na niskim poziomie średni odzysk pirymetanilu był nieznacznie zawyżony (124%), jednakże precyzja była bardzo dobra (6%). W normie PN-EN 15662:2008 nie udało się uzyskać tak dobrych granic oznaczalności dla tych związków: w produktach o wysokiej kwasowości – 0,1 mg/kg (dla pirymetanilu odzysk: 99%, RSD: 3%, dla pirymikarbu – 97%, 2%),

natomiast w produktach o wysokiej zawartości wody zakres wynosił 0,05–1,0 mg/kg (dla pirymetanilu średni odzysk: 98%, RSD: 6%, natomiast dla pirymikarbu – 92%, 8%).

Wyniki walidacyjne dla pozostałych trudnych związków, takich jak dichlorfos, fipronil, imazalil, metakryfos, metrybuzyna, prometryna i spiroksamina prezentowały się następująco. Dichlorfos, imazalil oraz metakryfos udało się oznaczyć tylko w próbkach truskawek z granicą oznaczalności odpowiednio: 0,01; 0,02; 0,01 mg/kg (średni odzysk odpowiednio: 96, 120, 71%; RSD odpowiednio: 7, 4, 7%). W normie PN-EN 15662:2008 dla dichlorfosu otrzymano zadowalające wyniki w obydwu grupach produktów w zakresie stężeń 0,05–1,0 mg/kg (średni odzysk: 107%, RSD: 8%), a dla imazalilu w zakresie 0,1–1,0 mg/kg (średni odzysk: 94%, RSD: 13%). Dla metakryfosu nie odnaleziono odpowiednich danych walidacyjnych w normie PN-EN 15662:2008. Fipronil, metrybuzyna, prometryna i spiroksamina zostały pomyślnie przetestowane w niniejszej pracy we wszystkich badanych matrycach, a granicę oznaczalności dla tych związków ustalono na poziomie 0,01 mg/kg. Wartości poprawności i prezycji dla tych związków w całym badanym zakresie wynosiły odpowiednio w próbkach jabłek − 105 (8), 95 (8), 109 (7), 107% (9%), w próbkach truskawek − 96 (8), 89 (7), 97 (8), 99% (8%). W normie PN-EN 15662:2008 odnajdujemy jedynie dane odnośnie walidacji w produktach o wysokiej zawartości wody dla metrybuzyny (zakres: 0,05–1,0 mg/kg, odzysk: 97%, RSD: 6%), prometryny (zakres: 0,05–1,0 mg/kg, odzysk: 99%, RSD: 6%) oraz spiroksaminy (zakres: 0,05–1,0 mg/kg, odzysk: 96%, RSD: 8%).

Ważnym aspektem w polityce bezpieczeństwa żywności jest możliwość wykrywania chloroorganicznych s.cz., które zostały wycofane z obrotu w krajach Unii Europejskiej. Pomimo zaprzestania ich stosowania obecność DDT oraz produktów jego rozpadu stwierdza się nadal w glebie, a niekiedy w tkankach roślinnych i zwierzęcych. DDT, jak i jego pochodne (p,p'-DDD, p,p'-DDE, o,p'-DDT, p,p'-DDT) to bardzo trwałe związki, mające zdolność kumulowania się we wszystkich organizmach (głównie w tkance tłuszczowej) i wykazujące szkodliwe działanie na środowisko, ludzi i zwierzęta (Pomianowski i wsp. 2011). Związki chloroorganiczne oznaczano na detektorze EC na bardzo niskich poziomach wzbogacenia (0,005 i 0,01 mg/kg) ze względu na ich niewielkie stężenia wykrywane w próbkach rzeczywistych. Spośród 15 zbadanych związków z tej grupy tylko jeden, beta-HCH w próbkach jabłek, nie spełniał wymagań walidacyjnych w całym badanym zakresie stężeń. Pozostałe związki pomyślnie przeszły procedurę walidacji uzyskując zadowalające wartości poprawności i precyzji dla całego badanego zakresu stężeń.

Mając na uwadze wszystkie wyżej wymienione informacje, metoda ekstrakcji QuEChERS dla przeważającej liczby związków, pomyślnie przeszła pełną procedurę walidacji zgodnie z wymogami dokumentu SANTE. Dla jabłek dla zdecydowanej większości, bo aż dla 126 związków poddanych walidacji, określono granicę oznaczalności na poziomie 0,01 mg/kg. Dla 21 związków ustalono jeszcze niższą wartość granicy oznaczalności równą 0,005 mg/kg. Były to: aldryna, beta-cyflutryna, p,p'-DDE, p,p'-DDD, dieldryna, alfa-endosulfan, beta-endosulfan, siarczan-endosulfan, endryna, HCB, alfa-HCH, gamma-HCH, heptachlor, heptachlor egzoepoksyd, heptachlor endoepoksyd, izofenfos, izofenfos metylowy, kwintocen, metoksychlor, prochloraz oraz propoksur. Dla jednego związku (procyjazyna) określono granicę oznaczalności równą 0,02 mg/kg. Spośród 160 badanych związków 12 nie spełniało kryteriów stawianych procedurom badawczym stosowanym w analizie pozostałości ś.o.r. Były to: acetamipryd, dichlorfos, imazalil, kaptafol, karbaryl, metakryfos, monokrotofos, oksadiksyl, ometoat, pimetrozyna, teknazen oraz beta-HCH. W truskawkach sytuacja wyglądała podobnie. Dla większości związków (123 s.cz.) poddanych walidacji określono granicę oznaczalności na poziomie 0,01 mg/kg. Dla 25 związków przyjęto granicę oznaczalności równą 0,005 mg/kg. Były to: aldryna, beta-cyflutryna, p,p'-DDE, p,p'-DDD, o,p'-DDT, p,p'-DDT, dieldryna, alfa-endosulfan, beta-endosulfan, siarczan-endosulfan, endryna, HCB, alfa-HCH, beta-HCH, gamma-HCH, heptachlor, heptachlor egzoepoksyd, heptachlor endoepoksyd, izofenfos, izofenfos metylowy, kaptan, kwintocen, metoksychlor, prochloraz oraz propoksur. Dla 6 związków (cyjanazyna, fludioksonil, flusilazol, imazalil, karbaryl i tebukonazol) wartość granicy określono na 0,02 mg/kg. Natomiast spośród 160 badanych związków tylko 6 z nich nie spełniało kryteriów walidacyjnych: acetamipryd, monokrotofos, ometoat, pimetrozyna, pirymifos etylowy i teknazen. Dla porównania – w normie PN-EN 15662:2008 przedstawiającej metodę QuEChERS, walidację metody przeprowadzono dla 196 związków (w produktach o wysokiej zawartości wody) oraz 138 związków (w produktach o wysokiej kwasowości). Granice oznaczalności nie były niższe niż 0,01 mg/kg. Tak duża liczba zbadanych związków oraz bardzo niskie granice oznaczalności dla większości z nich świadczą głównie o tym, że opisana w pracy metoda z wykorzystaniem oznaczenia za pomocą GC-ECD/NPD jest porównywalna z metodami wykorzystującymi chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas (GC-MS/MS).

Opracowana metoda została akredytowana na zgodność z normą PN-EN ISO/IEC 17025 i wprowadzona do analiz rutynowych. Metoda pomyślnie przeszła badania biegłości organizowane przez laboratoria referencyjne Unii Europejskiej w 2017 roku dla produktów o wysokiej kwasowości (cytryny, EUPT-FV-19). Badania próbek jabłek i truskawek z krajowej urzędowej kontroli pozostałości ś.o.r., prowadzonej przez Państwową Inspekcję Ochrony Roślin i Nasiennictwa w latach 2016−2017, wykonanych zoptymalizowaną metodą przedstawiono w tabeli 4. Wszystkie wyniki były potwierdzane za pomocą chromatografii gazowej i cieczowej

Tabela 4. Pozostałości środków ochrony roślin wykryte w reprezentatywnych matrycach owocowych w latach 2016–2017
Table 4. Pesticide residues detected in representative fruit matrices in 2016–2017

Produkt Product	Związek Compound	Liczba badanych próbek Number of analysed samples	Próbki z pozostałościami Samples with residues		Zakres pozostałości Range of residues [mg/kg]
			liczba number	procent percentage	
Jabłka Apples	acetamiprid	51	17	33,3	0,01−0,051
	boscalid		14	27,5	0,013−0,27
	captan		24	47,1	0,02−0,47
	chlorpyrifos[N]		1	2,0	0,089
	cyprodinil		3	5,9	0,017−0,075
	difenoconazole		1	2,0	0,021
	fludioxonil		7	13,7	0,011−0,22
	indoxacarb		2	3,9	0,012
	pyrimethanil		3	5,9	0,022−0,13
	pirimicarb		7	13,7	0,013−0,036
	pyraclostrobin		14	27,5	0,012−0,11
	tebuconazole		9	17,6	0,016−0,15
	trifloxystrobin		1	2,0	0,012
Truskawki Strawberry	azoxystrobin	34	1	2,9	0,06
	boscalid		13	38,2	0,016−0,26
	cyprodinil		7	20,6	0,031−0,096
	difenoconazole		1	2,9	0,041
	fenhexamil		2	5,9	0,45−0,52
	fludioxonil		6	17,6	0,021−0,071
	mepanipyrim		2	5,9	0,033−0,094
	pyraclostrobin		4	11,8	0,014−0,039
	pyrimethanil		1	2,9	0,059
	tetraconazole		1	2,9	0,012
	trifloxystrobin		4	11,8	0,01−0,12

[N]substancja czynna niepoduszczona do ochrony danej uprawy – active substance not authorised for protection of given crop

sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (GC-MS/MS; LC-MS/MS).

Wnioski / Conclusions

1. Rezultaty uzyskane w trakcie badań potwierdzają możliwość wykorzystania procedury w rutynowej analizie pozostałości ś.o.r. w owocach jako metodę alternatywną dla metody wykorzystującej tandemową spektrometrię mas.
2. Zmodyfikowano prostą, szybką i tanią wielopozostałościową metodę przygotowania próbki do analizy instrumentalnej za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej z detektorami selektywnymi polegającą na zminiaturyzowanej ekstrakcji acetonitrylem i oczyszczaniu ekstraktu za pomocą dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej (dSPE).
3. Główne zalety zoptymalizowanej metody to: szybkie przygotowanie próbki do analizy instrumentalnej, co przyczynia się do zwiększenia liczby przygotowanych próbek, zmniejszenie kosztów analizy poprzez zastosowanie taniego w eksploatacji chromatografu gazowego sprzężonego z detektorami selektywnymi, bardzo dobra liniowość odpowiedzi detektora, bardzo niskie poziomy granic oznaczalności oraz możliwości oznaczania niektórych „trudnych" związków (takich jak: chlorotalonil, dikofol, folpet, kaptan, dichlofluanid i tolilofluanid) bez konieczności wykonywania analiz metodami pojedynczymi.
4. Jednoczesne zastosowanie dwóch detektorów pozwala uzyskać większą ilość danych podczas jednego przebiegu chromatograficznego oraz potwierdzenie wyników. Pozwala to na wykluczenie wyników fałszywie pozytywnych.
5. Skrócenie czasu analizy sprzyja ogólnemu wzrostowi wydajności laboratorium i jest korzystne zarówno dla odbiorców badań, jak i konsumentów żywności.

Literatura / References

Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher D., Schenck F.J. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residue in produce. Journal of AOAC International 86 (2): 412–431.

AOAC Official Method 2007.01. 2007. Pesticide residue in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate. Official Methods of Analysis. AOAC International: Gaithersburg, MD.

Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady nr 2009/128/WE z dnia 21 października 2009 r. ustanawiająca ramy wspólnotowego działania na rzecz zrównoważonego stosowania pestycydów. 2009. Dz. Urz. L. 309 z dnia 24.11.2009, str. 71.

EURL. Methods provided by EURL-SRM. 2021. https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmplt_article.asp?CntID=1010&LabID=200&Lang=EN [dostęp: 31.05.2021].

Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. 2015. European Commission. Document No. SANTE/11945/2015, Supersedes Document No. SANCO/12571/2013, Implemented by 01/01/2016.

GUS 2020. Wynikowy szacunek głównych ziemiopłodów rolnych i ogrodniczych w 2020 r. Informacje sygnalne. Opracowanie z dnia 17.12.2020 r. https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/rolnictwo-lesnictwo/uprawy-rolne-i-ogrodnicze/wynikowy-szacunek-glownych-ziemioplodow-rolnych-i-ogrodniczych-w-2020-roku,5,19.html [dostęp: 31.05.2021].

Norma PN-EN-15662:2008. 2008. Żywność pochodzenia roślinnego – Oznaczanie pozostałości pestycydów metodą GC-MS i/lub LC-MS(/MS) po uprzedniej ekstrakcji i rozdziale acetonitrylem oraz oczyszczaniu metodą dyspersyjnej SPE – Metoda QuEChERS, 81 ss.

Norma PN-EN-15662:2018-06. 2018a. Food of plant origin – Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE – Modular QuEChERS-method.

Norma PN-EN ISO/IEC-17025. 2018b. Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących.

Nowacka A., Gnusowski B., Walorczyk S., Drożdżyński D., Raczkowski M., Hołodyńska-Kulas A., Frąckowiak D., Wójcik A., Ziółkowski A., Przewoźniak M., Swoboda W., Rzeszutko U., Domańska I., Pszczolińska K., Łozowicka B., Kaczyński P., Rutkowska E., Jankowska M., Hrynko I., Szpyrka E., Rupar J., Rogozińska K., Kurdziel A., Słowik-Borowiec M., Szala J., Szponik M. 2014. Pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych (rok 2012). [Pesticide residues in agricultural crops (2012)]. Progress in Plant Protection 54 (2): 219–230. DOI: 10.14199/ppp-2014-035

Nowacka A., Gnusowski B., Walorczyk S., Drożdżyński D., Raczkowski M., Hołodyńska-Kulas A., Frąckowiak D., Ziółkowski A., Przewoźniak M., Rzeszutko U., Domańska I., Pszczolińska K., Łozowicka B., Kaczyński P., Rutkowska E., Jankowska M., Hrynko I., Szpyrka E., Rupar J., Matyaszek A., Kurdziel A., Podbielska M., Słowik-Borowiec M., Szponik M. 2015. Pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych (rok 2013). [Pesticide residues in agricultural crops (2013)]. Progress in Plant Protection 55 (4): 423–439. DOI: 10.14199/ppp-2015-071

Nowacka A., Hołodyńska-Kulas A. 2020. Pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych (2016–2017). [Pesticide residues in agricultural crops (2016–2017)]. Progress in Plant Protection 60 (3): 201–231. DOI: 10.14199/ppp-2020-023

Nowacka A., Hołodyńska-Kulas A., Drożdżyński D., Przewoźniak M., Pszczolińska K., Łozowicka B., Kaczyński P. 2020. Pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych (2014–2015). [Pesticide residues in agricultural crops (2014–2015)]. Progress in Plant Protection 60 (2): 81–104. DOI: 10.14199/ppp-2020-010

Pomianowski J.F., Wieczorek J., Mozolewski W. 2011. Ocena pozostałości związków chloroorganicznych w różnych produktach tłuszczowych. Inżynieria i Aparatura Chemiczna 50 (3): 65–66.

Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności. 2002. Dz. Urz. L 31 z 1.02.2002, str. 1.

Rozporządzenie (WE) nr 396/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 lutego 2005 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości pestycydów w żywności i paszy pochodzenia roślinnego i zwierzęcego oraz na ich powierzchni, zmieniające dyrektywę Rady 91/414/EWG. 2005. Dz. Urz. L 70 z 16.03.2005 z późn. zm., str. 1.

Rozporządzenie (WE) nr 1107/2009 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 21 października 2009 r. dotyczące wprowadzania do obrotu środków ochrony roślin i uchylające dyrektywy Rady 79/117/EWG i 91/414/EWG. 2009. Dz. Urz. L 309 z 24.11.2009 z późn. zm., str. 1.

Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) nr 540/2011 z dnia 25 maja 2011 r. w sprawie wykonania rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009 w odniesieniu do wykazu zatwierdzonych substancji czynnych. 2011. Dz. U. L 153 z 11.06.2011 z późn. zm., 186 ss.

Rozporządzenie wykonawcze Komisji (UE) 2015/595 z dnia 15 kwietnia 2015 r. dotyczące wieloletniego skoordynowanego unijnego programu kontroli na lata 2016, 2017 i 2018, mającego na celu zapewnienie zgodności z najwyższymi dopuszczalnymi poziomami pozostałości pestycydów w żywności pochodzenia roślinnego i zwierzęcego oraz na jej powierzchni, a także mającego na celu ocenę narażenia konsumenta na te pozostałości. 2015. Dz. U. L 99 z 16.04.2015, str. 7.

Ustawa z dnia 18 grudnia 2003 r. o ochronie roślin. 2003. Dz. U. nr 133, poz. 849, z późn. zm.

Ustawa z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia. 2010. Dz. U. nr 136, poz. 914, z późn. zm.

Ustawa z dnia 8 marca 2013 r. o środkach ochrony roślin. 2013. Dz. U. nr 2013, poz. 455.