

Renata Czeczko*

**ZASTOSOWANIE METOD CHROMATOGRAFICZNYCH DO
OZNACZANIA POZOSTAŁOŚCI PESTYCYDÓW W OWOCACH
I WARZYWACH**

**APPLICATION OF CHROMATOGRAPHIC METHODS TO DETERMINATE
FOR RESIDUES OF PESTICIDES IN FRUITS AND VEGETABLES**

Słowa kluczowe: pestycydy, metody chromatograficzne.

Keywords: pesticides, chromatographic methods.

In the paper issues concerning pesticide accumulation in fruits and vegetables are discussed. A short characteristic of extraction methods used for pesticide isolation from fruits and vegetables is presented and difficulties encountered during sample preparation are enumerated and highlighted. The employment of various chromatographic techniques to pesticide residue analysis is discussed.

1. WPROWADZENIE

Pestycydy wprowadzono do powszechnego użycia, by niszczyć lub unieszkodliwić organizmy niebezpieczne dla człowieka lub jego otoczenia. Ich nazwa, pochodząca od łacińskich słów: *pestis* – szkodnik i *cedeo* – niszczyć, bardzo dobrze określa cel ich działania. Pestycydy można podzielić na wiele grup zarówno ze względu na ich zastosowanie (zoocydy, herbicydy, fungicydy, regulatory wzrostu, desykanty, defloranty), jak i strukturę chemiczną (np. związki chloroorganiczne, fosforoorganiczne, pochodne kwasów fenoksykarboksylowych, pochodne kwasu karbaminowego, pochodne triazynowe).

Stosowanie różnych środków ochrony roślin przynosi wiele niewątpliwych korzyści, do których można zaliczyć m.in. zwiększenie plonów upraw rolniczych dzięki ograniczeniu chorób roślin oraz niszczeniu patogenów, czy chwastów oraz zmniejszenie strat żywności w trakcie magazynowania i transportu. Niestety ich stosowanie ma też negatywne skutki,

* *Dr Renata Czeczko – Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin; tel.: 81 445 67 49; e-mail: renata.czeczko@up.lublin.pl*

ponieważ wykazują one trwałość, zdolność do biokumulacji, czy też mobilność w środowisku naturalnym człowieka. Pestycydy ulegają w środowisku różnym przemianom oraz przemieszczają się między jego elementami. Docierają one do roślin w wyniku bezpośrednio oprysku ich powierzchni oraz przez system korzeniowy, mogą być również dostarczane w celu zapobiegania stratom żywności podczas magazynowania i transportu. Kumulacja szkodliwych pozostałości po tych zabiegach zależy od gatunku rośliny, rodzaju pestycydu, wielkości dawki oraz sposobu aplikacji.

Do organizmu człowieka pestycydy przenikają głównie przez przewód pokarmowy, a dostarczone jednorazowo dawki tych środków nie są na ogół szkodliwe, jednak nawet niewielka ich ilość przyjmowana stale kumuluje się w organizmie i staje się niebezpieczna. Dlatego tak ważna jest kontrola poziomu pozostałości pestycydów w żywności. Na szczególną uwagę zasługują tu owoce i warzywa, gdyż ich spożycie corocznie wzrasta w związku z promowaniem zdrowego stylu życia. Właściwe urzędy, jak również producenci żywności są zobowiązani do monitorowania poziomu pozostałości pestycydów w owocach i warzywach i porównywania ich z najwyższymi dopuszczalnymi poziomami, określonymi w odniesieniu do poszczególnych pestycydów.

Wybór odpowiedniej metody analitycznej do oznaczania pozostałości pestycydów zależy głównie od rodzaju produktu spożywczego poddanego badaniu, tzw. matrycy, oraz od struktury chemicznej oznaczanego pestycydu. Przed przystąpieniem do oznaczania analizów, należy wykonać wiele czynności poprzedzających ten proces, do których należą: właściwe pobranie próbki, ekstrakcja pestycydów z próbki, oczyszczanie ekstraktu oraz jego odpowiednie przygotowanie i dopiero na końcu identyfikacja odpowiednio dobraną techniką badawczą [Bziuk 2001, Cajka i in. 2008]. Metodami chromatograficznymi, służącymi do oznaczania pestycydów mogą być zarówno chromatografia gazowa (GC), która jest stosowana najczęściej, jak i chromatografia cieczowa (HPLC), cienkowarstwowa (TLC) oraz chromatografia z płynem w stanie nadkrytycznym (SFC) [Bziuk 2001, Juszcak 2008].

2. ETAPY PRZYGOTOWANIA PRÓB DO ANALIZY

W przypadku analizy owoców i warzyw, jak również innych prób pochodzących z materiału biologicznego, mamy do czynienia z różnorodnością i złożonością matryc w jakich pestycydy są oznaczane. Podczas pobierania prób musimy zwrócić uwagę na to, by były one reprezentatywne i jednorodne. Ze względu na małe stężenie pozostałości pestycydów w owocach i warzywach etap przygotowania prób do analizy wymaga często nie tylko wyodrębnienia z matrycy, ale również zatężenia przed oznaczaniem. Podczas izolacji i wzbogacania zwiększa się stosunek ilości mikroskładników do makroskładników, co poprawia parametry analizy. Do najczęściej stosowanych metod ekstrakcji można zaliczyć ekstrakcję do fazy stałej SPE, polegającą na przepuszczaniu analizowanej próbki przez złożo umieszczonego w kolumnie sorbentu, na którym następuje zatrzymanie oznacza-

nych związków. Zatrzymane cząsteczki wymywa się następnie niewielkimi porcjami odpowiednio dobranego rozpuszczalnika, którym najczęściej jest aceton, acetonitryl czy octan metylu. Do ekstrakcji można też zastosować zmodyfikowaną formę SPE, czyli SPME (mikroekstrakcja do fazy stałej). W metodzie tej anality są zatrzymywane na fazie stacjonarnej zamkniętej w mikrostrzykawce i bezpośrednio przenoszone do dozownika chromatografu bez etapu wymywania rozpuszczalnikami. Jedną z często stosowanych metod ekstrakcji jest ekstrakcja ciecz-ciecz, polegająca na wydzieleniu analitów za pomocą odpowiednio dobranego rozpuszczalnika. Najczęściej jest to aceton czy acetonitryl, dobrze mieszające się z wodą, której w przypadku warzyw i owoców jest w próbce bardzo dużo. W ten sposób wyizolowane pestycydy są następnie ekstrahowane do lotnych, niemieszających się z wodą rozpuszczalników, takich jak dichlorometan, eter naftowy lub inne, w zależności od polarności pestycydów. Kolejną metodą ekstrakcji pestycydów jest ekstrakcja z fazy stałej, która jest dość prostą i efektywną metodą, polegającą na rozdrobnieniu próby, a następnie wymieszaniu jej z sorbentem w stanie stałym, takim jak np. żel krzemionkowy czy Florisil, i umieszczeniu na kolumnie przemywanej rozpuszczalnikiem [Sadowska-Rociek i Cieślak 2008].

Ważnym elementem przygotowania prób do analizy jest oczyszczenie ekstraktów ze związków, które mogłyby przeszkodzić w dokładnym ilościowym i jakościowym przebiegu analizy. Oczyszczanie ekstraktów może być prowadzone jednocześnie z procesem ekstrakcji lub może to być niezależny proces (chromatografia żelowa, chromatografia adsorbcyjna).

3. OZNACZANIE PESTYCYDÓW

Końcowym etapem analizy jest identyfikacja i ilościowe oznaczenie związków właściwie dobraną metodą badawczą. Dobór metody w dużym stopniu jest uzależniony od struktury pestycydów. Można wymienić takie metody jak chromatografia gazowa, chromatografia cieczowa, chromatografia cienkowarstwowa z użyciem selektywnych i specyficznych detektorów, testy immunologiczne czy spektrometria UV [Juszczak 2008]. Najczęściej stosuje się metodę HPLC, w przypadku związków polarnych, niestabilnych chemicznie i nietrwałych, oraz GC w przypadku związków zarówno polarnych, jak i niepolarnych, co daje możliwość jednoczesnego oznaczenia pestycydów z różnych grup.

Ważnym elementem analizy jest właściwa detekcja rozdzielanych związków. Najczęściej używanymi detektorami do oznaczania pozostałości pestycydów są: detektory spektrometru mas, wychwyty elektronów, płomieniowo-jonizacyjny, płomieniowo-fotometryczny czy termojonowy, czuły na związki azoto- i fosforoorganiczne. W ostatnich latach dużą popularnością cieszy się również metoda GCxGC, czyli dwuwymiarowa chromatografia gazowa, dająca większą czułość, lepszy rozdział pików oraz zmniejszenie wpływu matrycy na wyniki oznaczenia [Walorczyk 2008].

Należy również wspomnieć o jednej z najnowszych metod oznaczania pozostałości pestycydów, która jest coraz bardziej rozpowszechniona w świecie, jaką jest technika QuEChERS, czyli szybka, prosta, tania, efektywna i bezpieczna. Niewątpliwą zaletą tej metody jest niewielkie zużycie próbek i odczynników, co znacznie zmniejsza koszt analiz. Jest to metoda mało pracochłonna, ponieważ stosuje się tu jedynie wirowanie i wytrząsanie próby [Sadowska-Rociek i Cieślik 2008, Juszcak 2008].

Szczegółowe procedury dotyczące ekstrakcji, oczyszczania oraz oznaczania pestycydów z zastosowaniem metod chromatograficznych można znaleźć w normach, np. PN-EN 15637:2008 „Żywność pochodzenia roślinnego. Oznaczanie pozostałości pestycydów z zastosowaniem technik LC-MS/MS, ekstrakcji metanolem i oczyszczaniem z ziemią krzemkową” czy PN-EN 15662:2008 „Żywność pochodzenia roślinnego. Oznaczanie pozostałości pestycydów metodą GC-MS, po uprzedniej ekstrakcji i rozdziale acetonitrylem oraz oczyszczaniu metodą dyspersyjnej SPE. Metoda QuEChERS” [Sadowska-Rociek i Cieślik 2009].

4. PODSUMOWANIE

Oznaczanie pozostałości pestycydów w owocach i warzywach jest utrudnione z powodu małego stężenia tych substancji w próbach. Jednak ze względu na to, że należą one do grupy bardzo toksycznych związków o długotrwałych skutkach działania, należy bardzo dokładnie monitorować ich ilość w produktach żywnościowych, z zastosowaniem jak najlepszych i właściwie dobranych metod badawczych.

PIŚMIENNICTWO

- BZIUK M. 2001. Pestycydy występowanie, oznaczanie i unieszkodliwianie. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa.
- CAJKA T., HAJŚLOWA J., LACINA O., MASTOVSKA K., LEHOTA S. J. 2008. J. Chromatogr. 1186: 281–294.
- JUSZCZAK L. 2008. chemiczne zanieczyszczenia żywności i metody ich oznaczania. Laboratorium przemysłowe 3: 38–43.
- SADOWSKA-ROCIK A., CIEŚLIK E. 2009. Podstawy prawne dotyczące pozostałości pestycydów w Polsce – stan obecny. Bromat. Chem. Toksykol. XLII, 1: 104–110.
- SADOWSKA-ROCIK A., CIEŚLIK E. 2008. Stosowane techniki i najnowsze trendy w oznaczaniu pozostałości pestycydów w żywności metodą chromatografii gazowej. Chemia. Dydaktyka. Ekologia. Metrologia 13: 33–38.
- WALORCZYK S. 2008. Application of gas chromatography/tandem quadrupole mass spectrometry to the multi-residue analysis of pesticides in green leafy vegetables. Rapid Commun Mass Spectrom 22: 3791–3801.

Żywność pochodzenia roślinnego. Oznaczanie pozostałości pestycydów z zastosowaniem technik LC-MS/MS, ekstrakcji metanolem i oczyszczaniem z ziemią krzemkową. PN-EN 15637:2008.

Żywność pochodzenia roślinnego. Oznaczanie pozostałości pestycydów metodą GC-MS po uprzednie ekstrakcji i rozdzieleniu acetonitrylem oraz oczyszczaniu metodą dyspersyjnej SPE. Metoda QuEChERS. PN-EN 15662:2008.