

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

<sup>1</sup>Katedra Turystyki i Rekreacji, ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin, Polska

<sup>2</sup>Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin, Polska

e-mail: [grazyna.kowalska@up.lublin.pl](mailto:grazyna.kowalska@up.lublin.pl)

GRAŻYNA KOWALSKA<sup>1</sup>, RADOSŁAW KOWALSKI<sup>2</sup>

**Badania pozostałości pestycydów w żywności  
pochodzenia roślinnego przy użyciu metody QuEChERS  
i technik chromatograficznych GC i HPLC  
z detektorem spektrometrii mas MS i MS/MS.  
Praca przeglądowa**

---

Research on pesticide residues in food of plant origin using the QuEChERS method and chromatographic techniques GC and HPLC with mass spectrometry detector MS and MS/MS. A review

**Streszczenie.** W celu zapewnienia prawidłowych i wiarygodnych wyników oznaczenia pozostałości pestycydów w żywności pochodzenia roślinnego duże znaczenie odgrywają dzisiaj specyficzne i selektywne metody analityczne, do których należy metoda QuEChERS (*quick easy cheap effective rugged and safe*) połączona z technikami chromatografii gazowej (GC) i wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem spektrometrii mas MS i MS/MS. W badaniach przeprowadzonych w kraju i za granicą, wykazano, że udział procentowy próbek, w których stwierdzono obecność środków ochrony roślin różnił się w zależności od rodzaju badanej próbki. W owocach i warzywach wynosił od 15,89 do 100%, w ziołach i przyprawach od 6,67 do 59%, w sokach owocowo-warzywnych od 43,40 do 90,43%, w próbkach zbożowych od 15,73 do 38% oraz w innych próbkach żywności pochodzenia roślinnego od 29,03 do 33,3%. W grupie badanych owoców największy udział procentowy pozostałości pestycydów wykazano w próbkach czarnej i czerwonej porzeczki. Najczęściej występującymi pestycydami były: chlorpyrifos (30%), cypermethrin (20%), imazalil (20%), azoxystrobin (15%) i carbendazim (15%). Badania literaturowe donoszą, że najbardziej obciążanymi próbkami w grupie ziół i przypraw były: ziele tymianku i czarny pieprz. Najczęściej występującymi związkami były – cymoksanyln, dimetoat, tebukonazol metalazyln i carbendazym. Mimo że większość badanych próbek nie miała przekroczonych obowiązujących norm pozostałości pestycydów, nie wiadomo, jakie mogą być skutki kumulacji tych związków zarówno w organizmie człowieka, jak i w środowisku.

**Słowa kluczowe:** żywność pochodzenia roślinnego, pestycydy, LC-MS/MS, GC-MS, GC-MS/MS

## WSTĘP

Jednym z ważniejszych czynników mających wpływ na zdrowie i życie człowieka jest sposób prawidłowego odżywiania, a w tym bardzo istotną rolę odgrywa jakość spożywanych produktów spożywczych. W związku z intensyfikacją upraw, których celem jest otrzymanie wysokich plonów dobrej jakości uprawianych roślin, powodujących często skażenie produktów stosowanymi substancjami chemicznymi, dużego znaczenia nabiera ocena żywności pochodzenia roślinnego pod kątem zawartości zanieczyszczeń chemicznych, w tym pozostałości pestycydów. Środki ochrony roślin są powszechnie stosowane we wszystkich sektorach produkcji rolniczej w celu ograniczenia rozwoju szkodników, a także poprawy wydajności i jakości plonu. Są one również użytkowane późniwiej w celu wydłużenia okresu przechowywania i utrzymania właściwych cech produktu [Damalas i Eleftherohorinos 2011]. Niektóre z nich są kumulowane zarówno w organizmie człowieka, jak i w środowisku, co dodatkowo wydłuża czas ich szkodliwego działania [Walter 2009]. Wszystkie te czynniki powodują, że w ostatnich latach badania pozostałości pestycydów stanowią szczególny przedmiot zainteresowania organów odpowiedzialnych za bezpieczeństwo żywności. W tym zakresie Unia Europejska wprowadziła strategię bezpieczeństwa żywności, nakładając na wszystkie państwa członkowskie obowiązek posiadania programu monitorowania i prowadzenia urzędowej kontroli żywności dotyczącej zawartości zanieczyszczeń, w tym pestycydów zgodnie z najwyższymi dopuszczalnymi poziomami tych związków – NDP (ang. MRL, *maximum residue level*) [Kostka i in. 2011]. Dużą rolę w zapewnianiu prawidłowego i wiarygodnego oznaczenia pozostałości pestycydów w żywności pochodzenia roślinnego odgrywają dzisiaj specyficzne i selektywne metody analityczne, do których należy metoda QuE-ChERS połączona z technikami chromatograficznymi GC i HPLC z detektorem spektrometrii mas MS i MS/MS.

## TECHNIKI PRZYGOTOWANIA I ANALIZY PRÓBEK

Ze względu na duże zróżnicowanie składu próbek zanieczyszczonych pozostałościami pestycydów, które związane jest ze stanem skupienia, charakterystycznym składem, a więc rodzajem, ilością i wzajemnym stosunkiem substancji interferujących, jak również stężeniem analitów, bardzo trudne jest pozyskanie wszystkich informacji na temat uniwersalnego sposobu przygotowania poszczególnych rodzajów próbek. W procedurach analitycznych, które powszechnie stosowano do końca lat 90. XX w., można było wyróżnić kilka takich procedur, które były dość skomplikowane i długotrwałe. Ten stan rzeczy niósł za sobą duże ryzyko utraty oznaczanych związków, przy ich śladowej ilości [Namieśnik 2001, Namieśnik i Górecki 2001]. Jednym z kluczowych problemów była również izolacja składników występujących w próbkach stałych z zastosowaniem licznych technik ekstrakcyjnych, tj. ekstrakcji wspomaganą wytrząsaniem (LE), ekstrakcji metodą Soxhleta, ekstrakcji metodą Soxhleta wspomaganą mikrofalami (FMASE), przyspieszonej ekstrakcji (ASE), ekstrakcji wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym (MAE), ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami (UAE), ekstrakcji w stanie nadkrytycznym (SFE), techniki ekstrakcji membranowej. O wyborze techniki izolacji związków z grupy pestycydów z żywności decydują przede wszystkim właści-

wości analitów i rodzaj próbki, ale również istotne są właściwości i stężenie występujących substancji interferujących, czas analizy, łatwość przygotowania próbki do analizy i możliwości danej techniki ekstrakcyjnej [Tekel i in. 2001]. Podczas procesu ekstrakcji z badanych próbek izolowane były nie tylko interesujące nas anality, ale także różnego rodzaju związki (tłuszcze, cukry, woda, chlorofil i inne), których obecność prowadziła do szeregu interferencji wpływających na końcowy wynik analizy. Dlatego konieczny był etap oczyszczania ekstraktu, który wykonywano najczęściej technikami: ekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPE), ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika próbki zmieszanej z wypełniaczem (MSPDE), mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME), chromatografii żelowej (GPC), ekstrakcji z zastosowaniem wirującego elementu sorpcyjnego (SBSE). Niestety techniki te w przypadku pozostałości środków ochrony roślin nie zawsze charakteryzowały się poprawnymi parametrami analitycznymi (odzysk, odtwarzalność) oraz były pracochłonne i wymagały kosztownego sprzętu [Beyer i Biziuk 2007]. Tak przygotowane próbki przeznaczano do analizy, którą prowadzono najczęściej techniką chromatografii gazowej z detekcją klasyczną (detektor wychwytu elektronów ECD, detektor termojonowy NDP, detektor płomieniowo-fotometryczny FPD, detektor przewodnictwa elektrolitycznego ELCD, detektor płomieniowo-jonizacyjny FID (tab. 1). W analizie żywności zastosowano również chromatografię gazową w połączeniu z tandemową spektrometrią mas (MS/MS) lub rozdzielanie dwuwymiarowe (GC × GC) [Beyer i Biziuk 2007]. Natomiast w przypadku wysokosprawnej chromatografii cieczowej stosowano detektor UV i fluorescencyjny oraz połączenie z tandemową spektrometrią mas (MS/MS) – tab. 1, które pozwoliło znacznie zmodyfikować etap oczyszczania ekstraktu [Jansson i in. 2004].

Przegląd danych literaturowych od końca lat 60. ubiegłego wieku wskazuje na istotny postęp w analityce pozostałości środków ochrony roślin. W pierwszych badaniach ograniczano się zazwyczaj do analizy poszczególnych grup pestycydów z niewielką liczbą tych substancji (często analizowano pojedyncze związki), uzyskując zróżnicowane parametry poprawności analitycznej, tj. czułość metody, odzysk oraz dolną granicę wykrywalności i oznaczalności; w zależności od procedury analitycznej oraz rodzaju pestycydu:

– czułość: 0,1 ppm [Blinn 1964], 0,01 ppm [Newsom i Mitchell 1972], 0,05 ppm [Kirkland 1973], 0,02 ppm [Holt i Pease 1976];

– odzysk z materiału fortyfikowanego wynosił ok. 90% [Blinn 1964, Holt i Pease 1976, Cessna 1977], 71–92% [Kirkland 1973], 86,4–94,3% [Van Auken i Hulse 1977], 91–98% [Tjan i Jansen 1979], 76–105% [Iwata i in. 1981], 80–87% [Slates 1983], 87–97% [Bushway i in. 1984], 99% [Krause 1985], 82–84% [Van Den Broek i in. 1988, Jamieson i Duncan 1989], 80–100% [Rolle i De Cormis 1989], 94–99% [Chamberlain 1990], 67–95% [Rodriguez i in. 1991], 70–120% [Varela-Martínez i in. 2019];

– dolna granica wykrywalności mieściła się w zakresie: 0,0004–0,01 ppm (z detekcją MS) [Miller i in. 1975], 0,02 ppm [Holt i Pease 1976], 0,0005–0,001 ppm (ECD) [Sekita i in. 1982], 0,01–0,03 ppm [Ryan i in. 1982], 0,01–0,05 ppm [Slates 1983], 0,08 ppm [Bushway i in. 1984], 0,01–0,06 ppm [Rolle i De Cormis 1989], 0,0005–0,001 ppm [Rodriguez i in. 1991];

– dolna granica oznaczalności wynosiła: 0,01 ppm [Vinell i Johansson 1977], 0,001 ppm [Cessna 1977, Van Auken i Hulse 1977], 0,002 ppm [Van Den Broek i in. 1988], 0,005 ppm [Varela-Martínez i in. 2019].

Tabela 1. Detektory chromatograficzne wykorzystywane w badaniach próbek żywności na zawartość pestycydów [Beyer i Biziuk 2007]

Table 1. Chromatographic detectors used in testing food samples for pesticides [Beyer and Biziuk 2007]

Rodzaj chromatografii Type of chromatography	Detektor Detector	Anality Analytes
Gazowa Gas	spektrometr mas (MS) detektor uniwersalny, stosowany do identyfikacji nieznanymi substancjami lub detektor selektywny do oznaczania niektórych jonów mass spectrometer (MS) a universal detector, used to identify unknown substances, or a selective detector to determine some ions	insektycydy chloroorganiczne organochlorine insecticides
		pyretroidy pyrethroids
		pestycydy należące do różnych grup pesticides belonging to different groups
	detektor wychwytu elektronów (ECD) electron capture detector (ECD)	pestycydy chloroorganiczne organochlorine pesticides
		pestycydy chloroorganiczne i ich metabolity organochlorine pesticides and their metabolites
	detektor azotowo-fosforowy „termojonowy” (NPD) nitrogen-phosphorus detector (NPD)	insektycydy fosforoorganiczne i herbicydy triazynowe organophosphorus insecticides and triazine herbicides
		związki azoto- i fosforoorganiczne nitrogen and organophosphorus compounds
	detektor płomieniowo-fotometryczny (FPD) flame photometric detector (FPD)	związki siarki i fosforu sulfur and phosphorus compounds
detektor przewodnictwa elektrolitycznego „konduktometryczny” (ELCD) electrolytic conductivity detector (ELCD)	związki zawierające heteroatomy siarki, fosforu, azotu oraz chlorowców compounds containing sulfur, phosphorus, nitrogen and halogen heteroatoms	
detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) flame ionization detector (FID)	karbaminiany carbamates	
Cieczowa Liquid	spektrometr mas (MS) mass spectrometer (MS)	insektycydy fosforoorganiczne organophosphorus insecticides
		pestycydy należące do różnych grup pesticides belonging to different groups
	detektor fotometryczny w zakresie nadfioletu i światła widzialnego (UV-VIS) UV-VIS detector (UV-VIS)	substancje zawierające w cząsteczce wiązania niepolarne i grupy chromoforowe substances containing non-polar bonds and chromophore groups in the molecule
	detektor z matrycą fotodiodową (DAD) diode array detector (DAD)	najbardziej selektywny i specyficzny detektor w HPLC the most selective and specific detector in HPLC

Od połowy lat 90. XX w. stosowano procedury analityczne, które umożliwiały oznaczanie jednocześnie kilkudziesięciu pestycydów, lecz czasochłonność przygotowania próbek istotnie ograniczała szybkość przeprowadzenia badań dla dużej liczby próbek oraz była przyczyną wysokich kosztów takiej analizy [Holstage i in. 1994, Niessner i in. 1996]. Powyżej wymienione czynniki oraz wzrost świadomości społeczeństwa w zakresie bezpieczeństwa żywności czy ochrony środowiska (odpowiednie regulacje prawne) spowodowały potrzebę rozwoju szybkich, łatwych w stosowaniu, czułych i tanich metod analizy pozostałości środków ochrony roślin. W odpowiedzi na zapotrzebowanie w zakresie analizy pozostałości środków ochrony roślin w próbkach różnego pochodzenia opracowano szereg rozwiązań, które skutkują możliwością oznaczania nawet kilkuset pestycydów w pojedynczej próbce – jednoczesne zastosowanie GC-MS/MS i LC-MS/MS [Pihlström i in. 2007].

#### METODA QuEChERS

Ocena ilościowa i jakościowa pozostałości pestycydów jest bardzo trudna i wymagająca, dlatego metody analityczne w niej stosowane są nieustannie rozwijane. Jedną z najnowszych metod, w zakresie analizy pestycydów, coraz bardziej rozpowszechnioną w świecie, jest QuEChERS, określana jako prosta, szybka, tania i efektywna. Została ona opracowana przez Anastassiadesa i Lehotaya i jest stosowana jako technika przygotowywania próbek do oceny poziomu pozostałości pestycydów w próbkach żywności pochodzenia roślinnego [Anastassiades i in. 2003, Snopczyński i in. 2011].

W metodzie tej wykorzystuje się połączenie ekstrakcji w układzie ciecz – ciecz (LLE) i ekstrakcji do fazy stałej (SPE). W pierwszym etapie próbka jest ekstrahowana za pomocą rozpuszczalnika organicznego, w obecności bezwodnych soli. Następnie przeprowadza się proste oczyszczanie z użyciem sorbentów dyspersyjnych [Klinsunthorn i in. 2011, Snopczyński i in. 2011].

Zaletą metody QuEChERS jest jej duża uniwersalność i w związku z tym umożliwia ona szerokie modyfikacje w zakresie wprowadzania nowych związków, badanych surowców, a także wyposażenia i technik analitycznych stosowanych w laboratorium. Metoda ta charakteryzuje się małym zużyciem badanej próbki i toksycznych rozpuszczalników, co znacznie zmniejsza koszt analizy oraz jest zgodne z obecnie panującym nurtem zielonej chemii [Santana-Mayor i in. 2019]. Dodatkowo jest ona mało pracochłonna, ponieważ stosuje się tu jedynie naprzemienne wirowanie i wytrząsanie próbki. Czas przygotowania 10 próbek do badań wynosi około 30 min. Koszt przygotowania jednej próbki jest stosunkowo niski. Zastosowanie metody QuEChERS może zmniejszyć koszty materiałowe o jedną czwartą przy równoczesnym czterokrotnym zwiększeniu liczby analizowanych próbek w porównaniu z technikami tradycyjnymi [Czeczko 2011, Fenik i in. 2011].

Ponieważ metoda QuEChERS nie usuwa wszystkich zanieczyszczeń mogących powodować interferencje w trakcie oznaczania substancji występujących w badanych próbkach, zalecaną techniką do oznaczania pozostałości pestycydów po ekstrakcji i oczyszczeniu tą metodą jest spektrometria mas (MS). Połączenie metody QuEChERS ze spektrometrią mas (MS) daje możliwość identyfikacji poszczegół-

nych rodzajów pestycydów w próbkach, w których znajdują się liczne związki interferujące [Snopczyński i in. 2011].

Pozytywne wyniki zastosowania metody QuEChERS do oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach owoców [Danis i in. 2011, Lee i Lee 2012] i warzyw [Łozowicka i in. 2012, Melo i in. 2012, Sinha i in. 2012] zachęciły naukowców do szukania rozwiązań umożliwiających włączenie tej techniki do oznaczania zarówno nowych rodzajów próbek, jak i nowych związków. Obecnie dzięki odpowiednim modyfikacjom metodą QuEChERS połączoną z analizą LC-MS, LC-MS/MS, GC-MS lub GC-MS/MS oznaczane są pozostałości pestycydów m.in. w ziołach i przyprawach [Malinowska i Jankowski 2015, Reinholds i in. 2017], zbożach [Łozowicka i in. 2012, Malinowska i in. 2015], sokach owocowo-warzywnych [Tran i in. 2012], a także w różnych próbkach żywności pochodzenia roślinnego [Nasreddine i in. 2016].

QuEChERS należy do metod zatwierdzonych przez Europejski Komitet Normalizacyjny i od grudnia 2008 r. została włączona do zbioru Polskich Norm jako PN-EN 15662:2008 – „Żywność pochodzenia roślinnego. Oznaczanie pozostałości pestycydów metodą GC-MS, po uprzedniej ekstrakcji i rozdziale acetonitrylem oraz oczyszczaniu metodą dyspersyjną SPE. Metoda QuEChERS”, a obecnie zastąpiona przez PN-EN 15662:2018-06. Jest ona szeroko rozpowszechniona w laboratoriach badawczych, a w ofercie producentów odczynników chemicznych znalazły się gotowe zestawy soli i sorbentów dla różnego typu próbek, które dodatkowo skracają czas przygotowania próbki [Snopczyński i in. 2011]. Dane piśmiennictwa wskazują, że metoda QuEChERS połączona z analizą technikami GC i HPLC z detektorem MS umożliwia oznaczanie jednocześnie znacznej liczby pestycydów, tj.: 292 pestycydy – LC-MS/MS [Malinowska i in. 2015], 283 pestycydy – GC-MS [Skovgaard i in. 2017], 300–400 pestycydów GC-MS/MS + LC-MS/MS [Ibáñez 2017]. Ponadto metoda QuEChERS połączona z analizą technikami GC i HPLC z detektorem MS spełnia odpowiednie wymagania jakościowe, gdyż cechuje się poprawnymi wartościami parametrów analitycznych, tj. dolną granicą wykrywalności w zakresie 0,0007–0,1869 ppm, dolną granicą oznaczalności w zakresie 0,0029–0,4521 ppm oraz odzyskiem w granicach 79–106% [Jallow i in. 2017].

#### WYNIKI BADAŃ POZOSTAŁOŚCI PESTYCYDÓW W ŻYWNOCI POCHODZENIA ROŚLINNEGO

Badania pozostałości pestycydów metodą QuEChERS połączoną z analizą LC-MS/MS, GC-MS lub GC-MS/MS przeprowadzone w kraju i za granicą, w różnych rodzajach próbek żywności pochodzenia roślinnego wykazały, że udział procentowy próbek, w których stwierdzono obecność środków ochrony roślin różnił się w zależności od rodzaju badanej próbki, tj. w owocach i warzywach wynosił od 15,89 do 100% [Jardim i Caldas 2012, Nunez i in. 2012, El-Saeid i Selim 2013] w ziołach i przyprawach od 6,67 do 59% [Malinowska i in. 2015, Reinholds i in. 2017], w sokach owocowo-warzywnych od 43,40 do 90,43% [Ferrer i in. 2011, Gilbert-Lopez i in. 2012], w próbkach zbożowych od 15,73 do 38% [Łozowicka i in. 2012, Malinowska i in. 2015] oraz w innych próbkach żywności pochodzenia roślinnego od 29,03 do 33,3% – tab. 2 [Nasreddine i in. 2016, Yang i in. 2012]. Interesujące są badania dotyczące analizy pozostałości pestycydów w próbkach warzyw i owoców, pochodzących z upraw ekolo-

Tabela 2. Wyniki badań pozostałości pestycydów w próbkach żywności w wybranych doniesieniach literaturowych

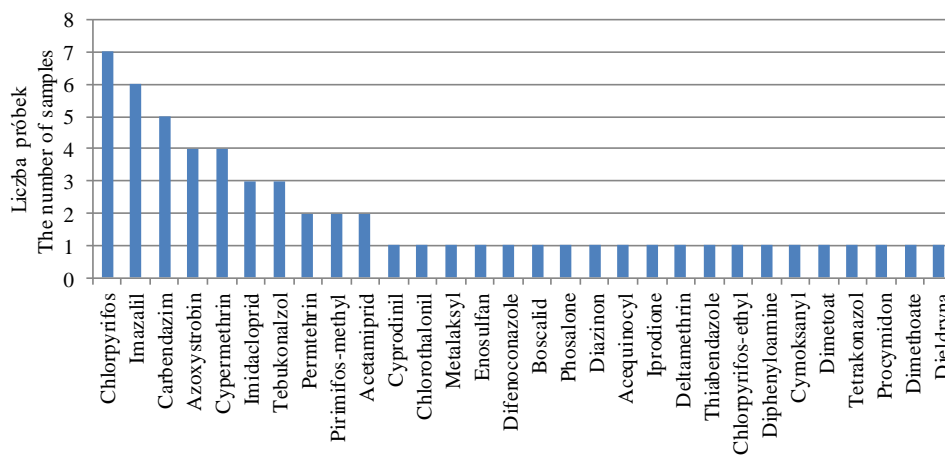
Table 2. Results of research on pesticide residues in food samples in selected literature reports

Rodzaj produktu Product type	Liczba badanych próbek The number of samples tested	Liczba próbek z oznaczonymi pozostałościami pestycydów Number of samples with pesticide residues	Pestycydy najczęściej występujące Most frequently occurring pesticides	%	Technika badawcza Research technique	Literatura Literature
1	2	3	4	5	6	7
Warzywa Vegetables	365	118	chlorpyrifos cypermethrin	32,32	GC-ECD GC-NPD	Łozowicka i in. 2012
	20	8	azoxystrobin cyprodinil	40,00	LC-MS/MS GC-MS/MS	Melo i in. 2012
	90	70	chlorpyrifos phosalone	77,78	LC-MS/MS	Sinha i in. 2012
	1057	168	permethrin enosulfan	15,89	GC-MS/MS	El-Saeid i Selim 2013
	138	47	azoxystrobin boscalid chlorothalonil	34,06	GC-ECD GC-NPD	Słowik-Borowiec i in. 2016
	30	5	cypermethrin chlorpyrifos difenoconazole	16,67	GC-MS	Skovgaard i in. 2017
Owoce Fruits	1150	383	chlorpyrifos diazinon	33,30	GC-MS	Danis i in. 2011
	155	120	carbendazim acequinocyl	77,42	GC-MS	Lee i in. 2012
Warzywa i owoce Vegetables and fruits	13556	6548	carbendazim chlorpyrifos	48,30	LC-MS/MS GC-MS/MS	Jardim i Caldas 2010
	3009	1135	cypermethrin	37,72	GC-MS GC-ECD	Drouillet-Pinard i in. 2011
	724	586	thiabendazole imazalil	80,94	LC-MS/MS GC-MS/MS	Hjorth i in. 2011
	866	293	imazalil	33,83	GC-MS	Knezevic i in. 2012
	17	17	imazalil imidacloprid	100,00	LC-MS/MS	Nunez i in. 2012
	199	46	imazalil iprodione azoxystrobin	23,1	GC-MS	Mutengwe i in.2016
	150	88	deltamethrin imidacloprid cypermethrin chlorpyrifos metalaksyl	58,67	LC-MS/MS GC-MS	Jallow i in. 2017
	144	46	carbendazim acetamiprid	31,94	LC-MS/MS	Stachniuk i in. 2017

c.d. tab. 2

1	2	3	4	5	6	7
Zioła Herbs	30	2/3	chlorpyrifos-ethyl diphenyloamine tebukonazol	6,67- 10,00	GC-MS/MS	Malinowska i Jankowski 2015
Zioła i przyprawy Herbs and spices	300	177	cymoksanyl dimetoat tebukonazol tetrakonazol	59,00	LC-MS/MS	Reinholds i in. 2017
Soki owocowe Fruit juices	106	46	carbendazim imazalil	43,40	HPLC- -MS/MS	Ferrer i in. 2011
	94	85	carbendazim imazalil	90,43	HPLC- -MS/MS	Gilbert-Lopez i in. 2012
	21	10	imidacloprid acetamiprid	47,62	LC-MS/MS GC-MS/MS	Tran i in. 2012
Zboża Cereals	89	14	primifos-methyl	15,73	GC-ECD GC-NPD	Łozowicka i in. 2012
	380	145	permethrin tebukonazol	38,00	LC-MS/MS	Malinowska i in. 2013
Żywność pochodzenia roślinnego Food of origin vegetable	31	9	acetamiprid azoxystrobin	29,03	LC-MS/MS	Yang i in. 2012
	126	42	chlorpyrifos procymidon primifos-methyl dimethoate dieldryna	33,33	GC-MS	Nasreddine i in. 2016

\*Udział procentowy próbek z oznaczonymi pozostałościami pestycydów do ogólnej liczby analizowanych próbek – Percentage of samples with marked pesticide residues to the total number of samples analyzed



Rys. 1. Występowanie pozostałości poszczególnych rodzajów pestycydów w różnych próbkach pochodzenia roślinnego (dane literaturowe podano w tab. 2)

Fig. 1. The occurrence of residues of individual types of pesticides in various samples of plant origin (literature data in tab. 2)



gicznych, wskazujące, że takie produkty nie są wolne od środków ochrony roślin [Gnusowski i in. 2012]. Autorzy badań podają, że owoce z upraw ekologicznych były zdecydowanie bardziej obciążone i charakteryzowały się większą częstotliwością występowania pozostałości środków ochrony roślin, tj. 25,8% badanych próbek owoców wobec 6,7% próbek warzyw [Gnusowski i in. 2012]. Wybrane dane literaturowe dotyczące częstotliwości występowania poszczególnych rodzajów pestycydów w próbkach żywności pochodzenia roślinnego przedstawiono na rysunku 1.

W owocach i warzywach najczęściej występującymi pestycydami były: chlorpyrifos (30%) [Danis i in. 2011, Jallow i in. 2017], cypermethrin (20%) [Drouillet-Pinard i in. 2011, Skovgaard i in. 2017], imazalil (20%) [Knezevic i in. 2012], azoxystrobin (15%) [Mutengwe i in. 2016, Słowik-Borowiec i in. 2016], carbendazim (15%) [Lee i in. 2012] – tab. 2. W grupie badanych owoców największy procent pozostałości pestycydów wykazano w próbkach czarnej porzeczki [Stachniuk i in. 2017] oraz czarnej i czerwonej porzeczki [Gnusowski i in. 2010]. W badaniach dotyczących analizy pozostałości pestycydów w próbkach ziół i przypraw (300 próbek) najwięcej poszukiwanych związków zidentyfikowano w próbkach ziela tymianku, co stanowiło ok. 80% wszystkich badanych próbek ziół – najczęściej występującymi związkami były cymoksanyl, dimetoat oraz tebukonazol [Reinholds i in. 2017]. Badania opisane w literaturze wykazały, że w grupie przypraw poszukiwane związki wykrywano najczęściej w próbkach pieprzu czarnego – 44%, w których stwierdzano obecność metalazyli i carbendazymu [Amate i in. 2010, Reinholds i in. 2017]. W ocenie próbek soków owocowo-warzywnych pod kątem zanieczyszczeń pozostałościami pestycydów najczęściej identyfikowanymi związkami były acetamprid, carbendazim i imazalil (tab. 2). Wybrane dane literaturowe dotyczące badań surowców zbożowych podają, że procent próbek, w których stwierdzono obecność pestycydów, wahała się od 15,73 do 34%, a najczęściej występującymi pozostałościami środków ochrony roślin były – permethrin, tebukonazol i primifosmethyl [Łozowicka i in. 2012, Malinowska i in. 2013]. W większości przeprowadzonych badań w próbkach żywności, w których stwierdzono obecność pozostałości pestycydów, rejestrowano także przekroczenia najwyższego dopuszczalnego stężenia i w zależności od rodzaju próbki oraz regionu, w którym przeprowadzono badania, wahał się od kilku do kilkudziesięciu procent.

#### WNIOSKI

Przedstawione w literaturze wyniki badań dowodzą, że próbki żywności pochodzenia roślinnego mogą zawierać pozostałości różnych środków ochrony roślin. Prowadzone badania wskazują również na przypadki przekroczeń najwyższego dopuszczalnego poziomu wybranych pestycydów. Mimo że jednak większość badanych próbek nie przewyższała stężeń określonych w obowiązujących normach dotyczących pozostałości pestycydów, nie wiadomo, w jaki sposób wieloletnia ekspozycja organizmów żywych na „dopuszczalne poziomy” tak zróżnicowanych chemicznie związków może oddziaływać na procesy życiowe w postaci zmian patologicznych. Właściwa i trafna ocena pozostałości substancji toksycznych w żywności ma kluczowe znaczenie dla wspierania wysiłków

mających na celu ochronę zdrowia człowieka. Jak wykazały liczne doniesienia literaturowe metoda QuEChERS połączona z technikami chromatograficznymi GC i HPLC z detektorem spektrometrii mas MS i MS/MS jest niezawodną i bardzo skuteczną metodą umożliwiającą precyzyjną ocenę żywności pochodzenia roślinnego pod kątem zawartości pozostałości pestycydów.

#### PIŚMIENNICTWO

- Amate C.F., Unterluggauer H., Fischer R.J., Fernández-Alba A.R., Masselter S., 2010. Development and validation of a LC-MS/MS method for the simultaneous determination of aflatoxins, dyes and pesticides in spices. *Anal. Bioanal. Chem.* 397, 93–107, <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3526-x>
- 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 residues in produce. *J. AOAC Int.* 86, 412–431.
- Beyer A., Biziuk M., 2007. Przegląd metod oznaczania pozostałości pestycydów i polichlorowanych bifenyli w próbkach żywności. *Chem. Inż. Ekol.* 14(S3), 291–313.
- Blinn R.C., 1964. Pesticide residues: A total phosphorus technique for determining organophosphorus pesticide residues using schöniger flask combustion. *J. Agric. Food Chem.* 12(4), 337–338, <https://doi.org/10.1021/jf60134a009>
- Bushway R. J., Bureau J. L., Al-Jerayed A., 1984. High-Performance Liquid Chromatographic determination of TCNB in potatoes. *J. Liq. Chromatogr.* 7(6), 1185–1193, <https://doi.org/10.1080/01483918408074036>
- Cessna A.J., 1977. Determination of terbacil in blueberries. *J. Agric. Food Chem.* 25(2), 432–433, <https://doi.org/10.1021/jf60210a032>
- Chamberlain S.J., 1990. Determination of multi-pesticide residues in cereals, cereal products and animal feed using gel-permeation chromatography. *Analyst* 115(9), <https://doi.org/1161-1165>. 10.1039/an9901501161
- Czeczko R., 2011. Zastosowanie metod chromatograficznych do oznaczania pozostałości pestycydów w owocach i warzywach. *Ochr. Środ. Zasob. Natur.* 48, 462–466.
- Damalas C.A., Eleftherohorinos I.G., 2011. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 8(5), 1402–1419, <https://doi.org/10.3390/ijerph8051402>
- Danis T.G., Karagiozoglou D.T., Tsakiris I.N., Alegakis A.K., Tsatsakis A.M., 2001. Evaluation of pesticides residues in Greek peaches during 2002–2007 after the implementation of integrated crop management. *Food Chem.* 126, 97–103, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.083>
- Drouillet-Pinard P., Boisset M., Periquet A., Lecerf J.M., Casse F., Catteau M., Barnat S., 2011. Realistic approach of pesticide residues and French consumer exposure within fruit & vegetable intake. *J. Environ. Sci. Health. B* 46, 84–91, <https://doi.org/10.1080/03601234.2011.534413>
- El-Saeid M.H., Selim M.T., 2013. Multiresidue analysis of 86 pesticides using gas chromatography mass spectrometry: II-nonleafy vegetables. *J. Chem.* article ID 727149, 1–10, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/727149>
- Fenik J., Tankiewicz M., Biziuk M., 2011. Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *Trend. Anal. Chem.* 30(6), 814–826, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.02.008>

- Ferrer C., Martinez-Bueno M.J., Lozano A., Fernandez-Alba A.R., 2011. Pesticide residue analysis of fruit juices by LC-MS/MS direct injection. One year pilot survey. *Talanta* 83, 1552–1561, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.11.061>
- Gilbert-Lopez B., Jaen-Martos L., Garcia-Reyes J.F., Villar-Pulido M., Polgar L., Ramos-Martos N., Molina-Diaz A., 2012. Study on the occurrence of pesticide residues in fruit based soft drinks from the EU market and morocco using liquid chromatography-mass spectrometry. *Food Contr.* 26, 341–346, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.01.025>
- Gnusowski B., Nowacka A., Walorczyk S., Łozowicka B., Szpyrka E., 2012. Pesticide residues in organic food of plant origin in Poland in 2010. *Prog. Plant Prot.* 52(1), 127–132.
- Hjorth K., Johansen K., Holen B., Andersson A., Christensen H.B., Siivinen K., Toome M., 2011. Pesticide residues in fruits and vegetables from South America – A Nordic project. *Food Contr.* 22, 1701–1706, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.05>
- Holstige D.M., Scharberg D.L., Tor E. R., Hart L.C., Galey F.D., 1994. A rapid multiresidue screen for organophosphorus, organochlorine, and N-methyl carbamate insecticides in plant and animal tissues. *J. AOAC Int.* 77(5), 1263–1274.
- Holt R.F., Pease H.L., 1976. Determination of oxamyl residues using flame photometric gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 24(2), 263–266.
- Ibáñez M., 2017. Multiresidue methods for pesticides and related contaminants in food (Chapter 13). W: S. Fanali, P.R. Haddad, C. Poole, M.L. Riekkola (red.), *Liquid Chromatography: Applications*, Elsevier, 381–400. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805392-8.00013-X>
- Iwata Y., Sugitani A., Ymada F., 1981. An analytical method for organophosphorus pesticides in the Onion. *J. Food Hyg. Soc. Japan* 22(6), 484–489. <https://doi.org/10.3358/shokueishi.22.484>
- Jallow M.F.A., Awadh D.G., Albaho M.S., Devi V.Y., Nisar. A., 2017. Monitoring of pesticides residues in commonly used fruits and vegetables in Kuwait. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 14(833), 1–12, <https://doi.org/10.3390/ijerph14080833>
- Jamieson J., Duncan H.J., 1989. Determination of thiabendazole residues in potatoes using high pressure liquid chromatography. *Potato Res.* 32(2), 123–126. <https://doi.org/10.1007/BF02358220>
- Jansson Ch., Pihlstrom T., Osterdahl B.G., Markides K.E., 2004. A new multi-residue method for analysis of pesticide residues in fruit and vegetables using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A* 1023, 93–104, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.10.019>
- Jardim A. N. O., Caldas, E. D., 2010. Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food – Results from 2001 to 2010. *Food Control* 25, 607–616, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.001>
- Kirkland J. J., Holt R. F., Pease H. L., 1973. Determination of benomyl residues in soils and plant tissues by high-speed cation exchange liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 21(3), 368–371, <https://doi.org/10.1021/jf60187a037>
- Klinsunthorn N., Petsom A., Nhujak T., 2011. Determination of steroids adulterated in liquid herbal medicines using QuEChERS sample preparation and high – performance liquid chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 55, 1175–1178, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2011.03.046>
- Knezevic Z.; Serdar M.; Ahel M., 2012. Risk assessment of the intake of pesticides in Croatian diet. *Food Control* 23, 59–65, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.06.011>
- Kostka G., Urbanek-Olejnik K., Liszewska M., 2011. Szacowanie ryzyka dla łącznego narażenia na pozostałości pestycydów w żywności. *Roczn. PZH* 62(2), 127–136.
- Krause R.T., 1985. Liquid chromatographic determination of N-methylcarbamate insecticides and metabolites in crops. I. Collaborative study. *J. Assoc. Anal. Chem.* 68(4), 726–733.

- Lee K.G., Lee S.K., 2012. Monitoring and risk assessment of pesticide residues in yuza fruits (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) and yuza tea samples produced in Korea. *Food Chem.* 135, 2930–2933, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.111>
- Łozowicka B., Micinski J., Zwierzchowski G., Kowalski I.M., Szarek J., 2012. Monitoring study of pesticide residues in cereals and foodstuff from Poland. *Pol. J. Environ. Stud.* 21(6), 1703–1712.
- Łozowicka B., Jankowska M., Kaczynski P., 2012. Pesticide residues in Brassica vegetables and exposure assessment of consumers. *Food Control* 25, 561–575, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.017>
- Malinowska E., Jankowski K., 2015. Pesticides residues in some herbs growing in agricultural areas in Poland. *Environ Monit. Assess.* 187, 775, <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4997-1>
- Malinowska E., Jankowski K., Sosnowski J., Wiśniewska-Kadżajan B., 2015. Pesticide residues in cereal crop grains in Poland in 2013. *Environ Monit. Assess.* 187(6), 329, <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4566-7>
- Melo A., Cunha S.C., Mansilha C., Aguiar A., Pinho O., Ferreira I.M.P.L., 2012. Monitoring pesticide residues in greenhouse tomato by combining acetonitrile-based extraction with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas-chromatography-mass spectrometry. *Food Chem.* 135, 1071–1077, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.112>
- Miller W.W., Wilkins J.S., Dunham L.L., 1975. Determination of aldosid insect growth regulator in waters, soils, plants, and animals by gas-liquid chromatography. *J. Assoc. Anal. Chem.* 58(1), 10–18.
- Mutengwe M.T., Chidamba L., Korsten L., 2016. Monitoring Pesticide Residues in Fruits and Vegetables at Two of the Biggest Fresh Produce Markets in Africa. *J. Food Protect.* 79(11), 1938–1945, <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-190>
- Namieśnik J., 2001. Modern trends in monitoring and analysis of environmental pollutants. *Pol. J. Environ. Stud.* 10, 127–140.
- Namieśnik J., Górecki T., 2001. Preparation of environmental samples for the determination of trace constituents. *Pol. J. Environ. Stud.* 10, 77–84.
- Nasreddine L., Rehaime M., Kassaify Z., Rechmany R., Jaber F., 2016. Dietary exposure to pesticide residues from foods of plant origin and drinks in Lebanon. *Environ Monit. Assess.* 188, 485, <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5505-y>
- Newsom H.C., Mitchell E.M., 1972. Determination of dinitramine residues in soil and plant tissue. *J. Agric. Food Chem.* 20 (6), 1222–1224, <https://doi.org/10.1021/jf60184a049>
- Niessner G., Buchberger W., Bonn G.K., 1996. Rapid multiresidue screening method for the determination of pesticides in plant materials. *J. Chromatogr.* 737(2), 215–222, [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(96\)00015-5](https://doi.org/10.1016/0021-9673(96)00015-5)
- Nunez O., Gallart-Ayala H., Ferrer I., Moyano E., Galceran M.T., 2012. Strategies for the multi-residue analysis of 100 pesticides by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1249, 164–180, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.06.028>
- PN-EN 15662:2008. Żywność pochodzenia roślinnego. Oznaczanie pozostałości pestycydów metodą GC–MS, po uprzedniej ekstrakcji i rozdziale acetonitrylem oraz oczyszczaniu metodą dyspersyjną SPE. Metoda QuEChERS. PKN, Warszawa.
- PN-EN 15662:2018-06. Żywność pochodzenia roślinnego. Multimetoda do oznaczania pozostałości pestycydów z zastosowaniem analizy opartej na GC i LC po ekstrakcji/podziale acetonitrylem i oczyszczaniu metodą dyspersyjnej SPE. Metoda modułowa QuEChERS. PKN, Warszawa.
- Pihlström T., Blomkvist G., Friman P., Pagard U., Osterdahl B. G., 2007. Analysis of pesticide residues in fruit and vegetables with ethyl acetate extraction using gas and liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 389(6), 1773–1789, <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1425-6>

- Reinholds I., Pugajeva I., Bavrins K., Kuckovska G., Bartkevics V., 2017. Mycotoxin, pesticides and toxic metals in commercial spices and herbs. *Food Addit. Contam. B* 10, 5–14, <https://doi.org/10.1080/19393210.2016.1210244>
- Rodríguez P., Permanyer J., Grases J. M., González C., 1991. Confirmation method for the identification and determination of some organophosphorus and organochlorine pesticides in cocoa beans by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 562(1–2), 547–553, [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(91\)80606-d](https://doi.org/10.1016/0378-4347(91)80606-d)
- Rolle S.D., Cormis L. de, 1989. High-performance liquid chromatography for the determination of pencyuron residues in several vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 37(4), 975–978, <https://doi.org/10.1021/jf00088a033>
- Ryan J.J., Pilon J.C., Leduc R., 1982. Composite sampling in the determination of pyrethrins in fruit samples. *J. Assoc. Anal. Chem.* 65(4), 904–908.
- Santana-Mayor A., Socas-Rodríguez B., HerreraHerrera A.V., Rodríguez-Delgado M.A., 2019. Current trends in QuEChERS method. A versatile procedure for food, environmental and biological analysis. *TrAC – Trends Anal. Chem.* 116, 214–235, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.018>
- Sekita H., Takeda M., Saito Y., Uchiyama M., 1982. Studies on analysis of pesticide residues in foods. 36. Analytical method for multi-residues of chlorinated phenoxy agricultural chemicals (2, 4-D, 2, 4, 5-T and 2, 4, 5-TP) in fruits. *Eisei Kagaku* 28(4), 219–227, [https://doi.org/10.1248/jhs1956.28.4\\_219](https://doi.org/10.1248/jhs1956.28.4_219)
- Sinha S.N., Vasudev K., Rao M.V.V., 2012. Quantification of organophosphate insecticides and herbicides in vegetable samples using the “Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe” (QuEChERS) method and a high-performance liquid chromatography-electrospray ionisation-mass spectrometry (LC-MS/MS) technique. *Food Chem.* 132, 1574–1584, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.102>
- Skovgaard M., Encinas S.R., Jensen O.Ch., Andersen J.H., Condarco G., Jørs E., 2017. Pesticide residues in commercial lettuce, onion, and potato samples from Bolivia – a threat to public health? *Environ. Health Insights* 11, 1–8, <https://doi.org/10.1177/1178630217704194>
- Slates R.V., 1983. Determination of chlorsulfuron residues in grain, straw, and green plants of cereals by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 31(1), 113–117, <https://doi.org/10.1021/jf00115a028>
- Słowik-Borowiec M., Szpyrka E., Rupar J., Podbielska M., Matyaszek A., 2016. Occurrence of pesticide residues in fruiting vegetables from production farms in south-eastern region of Poland. *Roczn. PZH* 67(4), 359–365.
- Snopeczyński T., Struciński P., Góralczyk K., Czaja K., Hernik A., Korcz W., Kucharska A., Ludwicki J.K., 2011. Zastosowanie metody QuEChERS w połączeniu z chromatografią gazową z detektorem wychwytu elektronów (GC – ECD) w analizie pozostałości pestycydów w żywności. *Roczn. PZH* 62(2), 145–151.
- Stachniuk A., Szmagara A., Czczeko R., Fornal E., 2017. LC-MS/MS determination of pesticide residues in fruits and vegetables. *J. Environ. Sci. Health B* 3, 52(7), 446–457, <https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1301755>
- Tekel J., Hudecova T., Pecnikova K., 2001. Isolation and purification techniques for pesticide residue analyses in samples of plant or animal origin. *Eur. Food Res. Technol.* 213, 250–258, <https://doi.org/10.1007/s002170100379>
- Tjan G.H., Jansen J.T., 1979. Gas-liquid chromatographic determination of thiabendazole and methyl 2-benzimidazole carbamate in fruits and crops. *J. Assoc. Anal. Chem.* 62(4), 769–773.
- Tran K., Eide D., Nickols S.M., Cromer M.R., Sabaa-Srur A., Smith R.E., 2012. Finding of pesticides in fashionable fruit juices by LCMS/ MS and GC-MS/MS. *Food Chem.* 134, 2398–2405, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.034>

- Walter J.C., 2009. Chlorinated pesticides: Threats to health and importance of detection. *Altern. Med. Rev.* 14(4), 347–359.
- Vinell B., Johansson C.E., 1977. Pesticide residues in lettuce. *Var Foda* 29(7), 258–262.
- Van Auken O.W., Hulse M., 1977. Extraction and gas-liquid chromatographic determination of hexachlorophene from several plant tissues. *J. Assoc. Anal. Chem.* 60(5), 1081–1086.
- Van den Broek H.H., Hermes G.B.M., Goewie C.E., 1988. Determination of fentin residues in potatoes and celery. *Analyst.* 113, 1237–1239, <https://doi.org/10.1039/AN9881301237>
- Varela-Martínez D.A., González-Curbelo M.Á., González-Sálamo J., Hernández-Borges J., 2019. Analysis of multiclass pesticides in dried fruits using QuEChERS-gas chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 297, 124961, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124961>
- Yang A., Park J.H., Abd El-Aty A.M., Choi J.H., Oh J.H., Do J.A., Kwon K., Shim K.H., Choi O.J., Shim J.H., 2012. Synergistic effect of washing and cooking on the removal of multi-classes of pesticides from various food samples. *Food Control* 28, 99–105, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.04.018>

**Źródło finansowania:** Pracę sfinansowano ze środków na działalność statutową prowadzoną w Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie w ramach funduszy z Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

**Summary.** In order to ensure a correct and reliable determination of pesticide residues in food of plant origin, special and selective analytical methods including the QuEChERS method (quick easy cheap effective rugged and safe) combined with chromatographic techniques GC and HPLC with mass spectrometry detector MS and MS/MS play a significant role today. In studies carried out domestically and abroad, it was shown that the percentage of samples in which the presence of plant protection products was found, differed depending on the type of sample tested. It ranged from 15.89 to 100% in fruits and vegetables, from 6.67 to 59% in herbs and spices, from 43.40 to 90.43% in fruit and vegetable juices, from 15.73 to 38% in cereal samples, and from 29.03 to 33.3% in other samples of food of plant origin. Within the group of investigated fruits, the highest percentage of pesticide residues was demonstrated in black and redcurrant samples. The most common pesticides were chlorpyrifos (30%), cypermethrin (20%), imazalil (20%), azoxystrobin (15%) and carbendazim (15%). Literature studies show that the most loaded dies in the group of herbs and spices were: thyme and black pepper. The most frequently occurring compounds were cymoxanil, dimetoat, tebuconazole, metalazyl and carbendazim. Although most of the tested samples did not exceed the existing norms of pesticide residues, the possible effects of the accumulation of these compounds in the human body or the environment are not known.

**Key words:** food of plant origin, pesticides, LC-MS/MS, GC-MS, GC-MS/MS

Otrzymano/ Received: 2.07.2019  
Zaakceptowano/ Accepted: 25.09.2019