

Received: 11.02.2021 / Accepted: 01.03.2021

Optymalizacja metody jednoczesnego oznaczania 490 środków ochrony roślin w piwie

Optimization of the method for the simultaneous determination of 490 pesticides in beer

Bożena Łozowicka^A, Ewa Rutkowska^{B*}, Izabela Hrynkó^C, Julia Rusiłowska^D, Aleksandra Pietraszko^E,
Magdalena Jankowska^F, Marta Czerwińska, Olga Nowakowska, Piotr Kaczyński^G

Streszczenie

Jednoczesne oznaczanie wielu pozostałości pestycydów w piwie jest złożonym i trudnym procesem analitycznym. Skomplikowana matryca wymaga indywidualnego podejścia badawczego. Kluczowym etapem niniejszej pracy było usunięcie substancji interferujących poprzez dobór pojedynczych sorbentów lub ich mieszanin umożliwiających redukcję efektu matrycy (ME) przy jednoczesnym uzyskaniu akceptowalnych odzysków dla każdego analitu. Do badań wytypowano dwie matryce: piwo jasne i ciemne oraz 490 substancji czynnych środków ochrony roślin (ś.o.r.). Oznaczenia instrumentalne przeprowadzono techniką GC-MS/MS i LC-MS/MS. Najskuteczniejszym sposobem oczyszczania próbki było użycie PSA/MgSO₄ jako sorbentu. Średnie odzyski mieściły się w akceptowalnym zakresie 71,5–114,2% (RSD > 17%). Ponad 80% analitów charakteryzowało się nieistotnymi wartościami efektu matrycy (–20% < ME < 20%). Pozostałości ś.o.r. wykryto w dwóch próbkach z 10 przebadanych, w których potwierdzono obecność fungicydów, takich jak boskalid, dimetomorf oraz tiofanat metylowy.

Słowa kluczowe: pozostałości środków ochrony roślin, piwo, oczyszczanie, efekt matrycy, aplikacja metody

Summary

Simultaneous determination of multi pesticide residues in beer is a complex and difficult analytical process. A complex matrix requires an individual research approach. The key stage of this work was the removal of interfering substances by selecting individual sorbents or their mixtures enabling the matrix effect (ME) reduction while obtaining acceptable recoveries for each analyte. Two matrices were selected for the research: light and dark beer and 490 active substances of plant protection products (PPPs). Instrumental determinations were carried out using GC-MS/MS and LC-MS/MS technology. The most effective way to purify the sample was to use PSA/MgSO₄ as a sorbent. The mean recoveries were within the acceptable range of 71.5–114.2% (RSD > 17%). More than 80% of the analytes had insignificant matrix effect values (–20% < ME < 20%). Residues of PPPs were detected in two samples out of 10 tested, in which the presence of fungicides was confirmed, such as boscalid, dimethomorph and thiophanate-methyl.

Key words: pesticide residues, beer, clean-up, matrix effect, method application

Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Terenowa Stacja Doświadczalna w Białymstoku
Chełmońskiego 22, 15-195 Białystok

*corresponding author: e.rutkowska@iorpib.poznan.pl

ORCID: ^A0000-0002-2760-3333, ^B0000-0002-4885-9127, ^C0000-0001-5836-0912,

^D0000-0003-3135-4779, ^E0000-0002-0113-4639, ^F0000-0001-9049-2624, ^G0000-0002-3511-752X

Wstęp / Introduction

Piwo to napój alkoholowy otrzymywany w wyniku fermentacji alkoholowej brzojki piwnej, czyli wodnego wyciągu ze słodu browarnego z dodatkiem chmielu i innych surowców. Oprócz chmielu, podstawowymi surowcami stosowanymi do warzenia piwa są: woda, skrobia (najczęściej jest to sód jęczmienny, czasami pszeniczny) oraz drożdże piwne (Vela i wsp. 2007).

Zarówno uprawy zbożowe, z których wytwarzany jest sód, jak i uprawy chmielu podatne są na porażenie przez różne agrofagi. W celu zapewnienia zadowalających plonów o odpowiedniej jakości konieczne jest zastosowanie odpowiedniej ochrony chemicznej. Efektem stosowania środków ochrony roślin (ś.o.r.) może być występowanie ich pozostałości w surowcach do wytwarzania piwa i w konsekwencji, w samym piwie (Inoue i wsp. 2011).

Do najważniejszych chorób jęczmienia należą: mączniak prawdziwy traw i zbóż (*Blumeria graminis*), rdza jęczmienna (*Puccinia hordei*), plamistość siatkowa (*Pyrenophora teres*), rynchosporioza zbóż (*Rhynchosporium secalis*), fuzaryjna zgorzel podstawy źdźbła (*Fusarium spp.*) czy septorioza paskowana liści (*Mycosphaerella graminicola*). Najważniejszymi szkodnikami jęczmienia są: skrzyżponki (*Oulema spp.*), ploniarka zbożówka (*Oscinella frit* L. i *Oscinella pusilla* Meig.), mszyca zbożowa (*Sitobion avenae* F.) oraz mszyca czeremchowo-zbożowa (*Rhopalosiphum padi* L.). Środki ochrony roślin stosowane przeciwko wyżej wymienionym agrofagom to m.in. fungicydy – Dedal 497 SC (substancja czynna – s.c.z. tiofanat metylu), Ventur 300 SC (s.c.z. boskalid), Prostaro 250 EC (s.c.z. tebukonazol) oraz insektycydy – Alstar 100 EW (s.c.z. cypermetryna) i Decis Mega 50 EW (s.c.z. deltametryna).

Specyfika uprawy chmielu sprzyja rozwojowi chorób, ponieważ gatunek ten jest uprawiany w jednolitej odmianowo długoletniej monokulturze. Oznacza to, że wszystkie rośliny na plantacji są jednakowo podatne na porażenie, a niewielka odległość między roślinami ułatwia szybkie rozprzestrzenianie się agrofagów.

Wśród najważniejszych chorób chmielu należy wskazać mączniak rzekomy chmielu (*Pseudoperonospora humuli*), mączniak prawdziwy chmielu (*Podosphaera macularis*), a wśród szkodników mszycę śliwowo-chmielową (*Phorodon humuli*), przędziorka chmielowca (*Tetranychus urticae*), omacnicę prosowiankę (*Ostrinia nubilalis*) oraz pchełkę chmielową (*Psylliodes attenuata*). Powszechnie stosowane fungicydy to: Amistar 250 SC (s.c.z. azoksystrobina) i Fossa 633 EC (s.c.z. fenpropidyna, prochloraz), natomiast szkodniki zwalczą się przy użyciu następujących insektycydów: Tepeki 50 WG (s.c.z. flonikamid), Ninja 050 CS (s.c.z. lambda-cyhalotryna) i Movento 100 SC (s.c.z. spirotramat).

W celu zapewnienia bezpieczeństwa konsumentów spożywających piwo, niezbędna jest kontrola jakości produktu,

w tym również ocena poziomu pozostałości ś.o.r. i porównanie ich do poziomów normatywnych NDP (najwyższych dopuszczalnych poziomów). W unijnym ustawodawstwie NDP pestycydów wyznaczone są dla produktów wyjściowych, takich jak zboża: jęczmień, pszenica czy żyto oraz chmiel, które są niezbędnym surowcem do wytworzenia piwa. Brak natomiast jest norm granicznych dla przetworzonych produktów spożywczych (Rozporządzenie WE 2005).

Szerokie spektrum stosowanych ś.o.r. na plantacjach jęczmienia, pszenicy oraz chmielu, zaleganie w środowisku, różnorodność klas chemicznych oraz ciągłe aktualizacje zezwoleń na stosowanie s.c.z., wymuszają zastosowanie metody dedykowanej specyficznej matrycy jaką jest piwo.

Podstawowym problemem współczesnej analityki jest obecność w badanej matrycy dużej liczby związków interferujących z badanymi analitami, często występującymi na niskich poziomach stężeń (0,01–0,001 mg/kg). Matryca piwna jest zróżnicowana pod względem zawartości składników koelujących. Zawiera białka, garbniki, alkohol, cukry, skrobię, związki siarki, fenole, kwasy organiczne, naturalnie występujące pigmenty, a także aminokwasy i witaminy z grupy B (B1, B2, B3 (PP), B7 (H) oraz B9 (kwas foliowy)) (Ma i wsp. 2016). Obecność tych związków prowadzi do pogorszenia parametrów rozdzielienia chromatograficznego (poszerzenia, ogonowania pików chromatograficznych), a także zakłóca pracę, czy uszkadza sprzęt wykorzystywany do analizy, co w konsekwencji prowadzi do zafałszowania wyniku badań.

Złożoność matrycy sprawia, że niezbędne jest usunięcie substancji interferujących, wyodrębnienie badanych analitów oraz ich zateżenie przed końcowym oznaczaniem tak, aby oddzielić występujące na poziomie śladów pozostałości ś.o.r. od obecnych w wielokrotnie wyższych stężeniach substancji interferujących (Bolaños i wsp. 2008).

Celem pracy było opracowanie efektywnej metody oznaczania 490 ś.o.r. zróżnicowanych pod kątem właściwości fizykochemicznych, należących do grupy fungicydów, herbicydów i insektycydów, w ciekłych matrycach piwa jasnego i ciemnego, których oznaczenia wykonano techniką chromatografii gazowej i cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (GC-MS/MS i LC-MS/MS).

Materiały i metody / Materials and methods

Materiał do badań stanowiły próbki piwa jasnego i ciemnego wolne od pozostałości ś.o.r. (potwierdzone chromatograficznie). Do momentu analizy próbki przechowywane były w zamkniętych butelkach w temperaturze 6°C ±2°C.

Próbkę piwa o masie 10 g umieszczono w próbkach polipropylenowych o pojemności 50 ml, następnie wzbogacono mieszaninami wzorców (tab. 1) na trzech poziomach stężeń: (i) 0,005 mg/kg, (ii) 0,050 mg/kg i (iii) 0,500 mg/kg.

Tabela 1. Oznaczone substancje czynne środków ochrony roślin
Table 1. Determined active substances of plant protection products

Akarycydy (11)	benzoksymat ² , bromopropylat ¹ , chlofentezyna ² , chlorfenson ¹ , dikofol ¹ , etoksazol ^{1,2} , heksyiazoks ^{1,2} , propargit ^{1,2} , tebufenpyrad ^{1,2} , tetradifon ¹ , tlenek fenbutacyny ²
Acaricides (11)	benzoximate ² , bromopropylate ¹ , chlorfenson ¹ , clofentezine ² , dicofol ¹ , etoxazole ^{1,2} , hexythiazox ^{1,2} , propargite ^{1,2} , tebufenpyrad ^{1,2} , tetradifon ¹ , fenbutatin oxide ²
Insektycydy (211)	3-hydroksykarbofuran ¹ , abamektyna ² , acefat ^{1,2} , acetamipryd ^{1,2} , akrynatoryna ¹ , aldikarb ² , aldikarbu sulfon ² , aldikarbu sulfotlenek ² , aldryna ¹ , alletryna ² , alfa-cypermetyryna ¹ , aminokarb ² , amitraz ¹ , azadyrachtyna ² , azynofos etylowy ¹ , azynofos metylowy ¹ , bendiokarb ² , benfurakarb ^{1,2} , bifenazat ^{1,2} , bifentryna ¹ , beta-cyflutryna ¹ , bromofos etylowy ¹ , bromofos metylowy ¹ , buprofezyna ^{1,2} , butokarboksym ² , butokarboksymu sulfotlenek ² , BYI08330-enol ² , BYI08330-enol-glukozyd ² , BYI08330-ketohydroksy ² , BYI08330-monohydroksy ² , chinalfos ¹ , chlorantraniliprol ^{1,2} , chlordan cis ¹ , chlordan trans ¹ , chlorfenapyr ¹ , chlorfenwinfos ¹ , chlorfluazuron ² , chlorobenzylat ¹ , chloropiryfos ¹ , chloropiryfos metylowy ¹ , chlotianidyna ² , chromafenozyd ² , cyflutryna ¹ , cyjanotraniliprol ² , cypermetyryna ¹ , dazomet ² , DDT (suma op ¹ -DDT ¹ , pp ¹ -DDD ¹ , pp ¹ -DDE ¹ , pp ¹ -DDT ¹), DEET ¹ , deltametryna ¹ , demeton-S ² , demeton-S-metylowy ² , demeton-S-metylosulfonowy ² , diafentiuron ² , diazynon ¹ , dichlorfos ¹ , dieldryna ¹ , diflubenzuron ² , dikrotofos ^{1,2} , dimetoat ^{1,2} , dinotefuran ² , dioksakarb ² , disulfoton ² , disulfoton sulfon ² , doramektyna ² , emamektyna B1a ² , emamektyna B1b ² , endosulfan-alfa ¹ , endosulfan-beta ¹ , endosulfan-siarczan ¹ , endryna ¹ , EPN ^{1,2} , eprinomektyna B1a ² , esfenwalerat/fenwalerat ¹ , etiofenkarb ² , etiofenkarbu sulfon ² , etiofenkarbu sulfotlenek ² , etion ¹ , etoprofos ^{1,2} , etofenproks ^{1,2} , etyprol ² , fenamifos ^{1,2} , fenamifos sulfon ² , fenamifos sulfotlenek ² , fenazachina ^{1,2} , fenchlorfos ^{1,2} , fenitroton ¹ , fenobukarb ² , fenoksykarb ^{1,2} , fenpiroksymat ² , fenpropatryna ¹ , fensulfotionu sulfon ² , fention ¹ , fention sulfon ² , fention sulfotlenek ² , fentoat ^{1,2} , fipronil ^{1,2} , flonikamid ^{1,2} , fluazuron ² , flubendiamid ² , flufenoksuron ² , flumetryna ² , foksime ² , fonofos ¹ , forat ¹ , foratu sulfon ² , foratu sulfotlenek ² , formetanat ² , formotion ¹ , fosalon ¹ , fosfamidon ² , fosmet ^{1,2} , fostiazat ^{1,2} , furatiokarb ² , gamma cyhalotryna ¹ , halofenozyd ² , HCH-alfa ¹ , HCH-beta ¹ , HCH-gamma (lindan) ¹ , heksaflumuron ² , heptachlor ¹ , heptachlor endo-epoksyd ¹ , heptenofos ¹ , hydrametylnon ² , imidachlopryd ² , indoksakarb ^{1,2} , iwermektyna ² , izofenfos ¹ , izofenfos metylowy ¹ , izokarboksym ¹ , izoprokarb ^{1,2} , kadusafos ^{1,2} , karbaryl ^{1,2} , karbofuran ^{1,2} , karbosulfan ¹ , krimidin ² , kumafos ² , lambda cyhalotryna ¹ , lufenuron ² , malaokson ¹ , malation ¹ , mekarbam ¹ , meksakarb ² , metaflumizon ² , metakryfos ^{1,2} , metamidofos ^{1,2} , metiokarb ² , metiokarbu sulfon ² , metiokarbu sulfotlenek ² , metoksychlor (DMDT) ¹ , metoksyfenozyd ² , metolkarb ² , metomyl ² , metydation ¹ , mewinfos ^{1,2} , mireks ¹ , monokrotofos ² , moksydektyna ² , naleś ² , nitenpyram ² , nowaluron ² , oksamyl ^{1,2} , oksamylu oksym ² , oksydemeton metylowy ² , ometoat ² , paraokson ¹ , paraokson metylowy ¹ , paration etylowy ¹ , paration metylowy ¹ , permetyryna ¹ , pimetozyna ² , pirydalił ² , piryimifos etylowy ¹ , piryimifos metylowy ¹ , piryimikarb ^{1,2} , piryimikarb desmetyl ² , piryproksyfen ^{1,2} , profenofos ¹ , promekarb ² , propoksur ^{1,2} , protiofos ^{1,2} , pyridaben ^{1,2} , resmetryna ¹ , rotenon ² , spinosyn A ¹ , spinosyn D ¹ , spirodiklofen ^{1,2} , spiromesifen ^{1,2} , spirotetramat ² , tau fluwalinat ¹ , tebufenozyd ² , teflubenzuron ² , teflutryna ¹ , tetrachlorwinfos ¹ , tetrametryna ¹ , tiachlopryd ² , tiametoksam ^{1,2} , tiodikarb ² , tiofanoksu sulfon ² , tiofanoksu sulfotlenek ² , tionazyna ¹ , tralometyryna ¹ , transflutryna ² , triazofos ¹ , trichlorfon ² , triflumuron ² , wamidotion ² , zeta-cypermetyryna ¹
Insecticides (211)	3-hydroxycarbofuran ¹ , abamectin ² , acephate ^{1,2} , acetamiprid ^{1,2} , acrinathrin ¹ , aldicarb ² , aldicarb sulfone ² , aldicarb sulfoxide ² , aldrin ¹ , allethrin ² , alpha-cypermethrin ¹ , aminokarb ² , amitraz ¹ , azadirachtin ² , azinphos-ethyl ¹ , azinphos-methyl ¹ , bendiocarb ² , benfuracarb ^{1,2} , bifenazate ^{1,2} , bifenthrin ¹ , beta-cyfluthrin ¹ , bromophos-ethyl ¹ , bromophos-methyl ¹ , buprofezin ^{1,2} , butocarboxim ² , butocarboxim sulfoxide ² , BYI08330-enol ² , BYI08330-enol-glucoside ² , BYI08330-ketohydroxy ² , BYI08330-monohydroxy ² , cadusafos ^{1,2} , carbaryl ^{1,2} , carbofuran ^{1,2} , carbosulfan ¹ , chlordane cis ¹ , chlordane trans ¹ , chlorantraniliprole ^{1,2} , chlorfenapyr ¹ , chlorfenvinfos ¹ , chlorfluazuron ² , chlorobenzilate ¹ , chlorpyrifos ¹ , chlorpyrifos-methyl ¹ , chromafenozide ² , clothianidin ² , coumaphos ² , crimidine ² , cyantraniliprole ² , cyfluthrin ¹ , lambda-cyhalothrin ¹ , gamma-cyhalothrin ¹ , cypermethrin ¹ , dazomet ² , DDT (sum of op ¹ -DDT ¹ , pp ¹ -DDD ¹ , pp ¹ -DDE ¹ , pp ¹ -DDT ¹), dieldrin ¹ , deltamethrin ¹ , demeton-S ² , demeton-S-methyl ² , demeton-S-methyl sulfone ² , diafentiuron ² , diazinon ¹ , dichlorvos ¹ , dicrotophos ^{1,2} , diethyltoluamide (DEET), diflubenzuron ² , dimethoate ^{1,2} , dinotefuran ² , dioxakarb ² , disulfoton ² , disulfoton sulfone ² , doramectin ² , emamectin B1a ² , emamectin B1b ² , alpha-endosulfan ¹ , beta-endosulfan ¹ , endosulfan-sulphate ¹ , endrin ¹ , EPN ^{1,2} , eprinomectin B1a ² , esfenvalerate/fenvalerate ¹ , ethiofenkarb ² , ethiofenkarb sulfone ² , ethiofenkarb sulfoxide ² , ethion ¹ , ethiprole ² , ethoprophos ^{1,2} , etofenprox ^{1,2} , fenamifos ^{1,2} , fenamifos sulfone ² , fenamifos sulfoxide ² , fenazaquin ^{1,2} , fenchlorfos ^{1,2} , fenitrothion ¹ , fenobucarb ² , fenoxycarb ^{1,2} , fenpropathrin ¹ , fenpyroximate ² , fensulfothion sulfone ² , fention ¹ , fention sulfone ² , fention sulfoxide ² , fipronil ^{1,2} , flonicamid ^{1,2} , fluazuron ² , flubendiamide ² , flufenoxuron ² , flumethrin ² , formetanate ² , formotion ¹ , fonofos ¹ , fosthiazate ^{1,2} , furathiokarb ² , halofenozide ² , alpha-HCH ¹ , beta-HCH ¹ , gamma-HCH (lindane) ¹ , heptachlor ¹ , heptachlor endo-epoxide ¹ , heptenofos ¹ , hexaflumuron ² , hydramethylnon ² , imidacloprid ² , indoxakarb ^{1,2} , isocarbophos ¹ , isofenfos ¹ , isofenfos-methyl ¹ , isoprokarb ^{1,2} , ivermectin ² , lufenuron ² , malaokson ¹ , malathion ¹ , mekarbam ¹ , metaflumizone ² , methacryfos ^{1,2} , methamidophos ^{1,2} , methiokarb ² , methiokarb sulfone ² , methiokarb sulfoxide ² , methidathion ¹ , methomyl ² , methoxychlor (DMDT) ¹ , methoxyfenozyd ² , metolkarb ² , mevinfos ^{1,2} , mexacarb ² , mireks ¹ , monocrotophos ² , moxidectin ² , naleś ² , nitenpyram ² , novaluron ² , ometoat ² , oxamyl ^{1,2} , oxamyl oxime ² , oxydemeton-methyl ² , paraokson ¹ , paraokson-methyl ¹ , parathion ¹ , parathion-methyl ¹ , permethrin ¹ , phenthoate ^{1,2} , phorate ¹ , phorate sulfone ² , phorate sulfoxide ² , phosalone ¹ , phosmet ^{1,2} , phosphamidon ² , phoxim ² , pirimicarb ^{1,2} , pirimicarb-desmethyl ² , pirimiphos-ethyl ¹ , pirimiphos-methyl ¹ , profenofos ¹ , promecarb ² , propoxur ^{1,2} , prothiofos ^{1,2} , pymetrozyna ² , pyridaben ^{1,2} , pyridalył ² , pyriproksyfen ^{1,2} , quinalphos ¹ , resmethrin ¹ , rotenone ² , spinosyn A ¹ , spinosyn D ¹ , spirodiklofen ^{1,2} , spiromesifen ^{1,2} , spirotetramat ² , tau-fluvalinat ¹ , tebufenozyd ² , teflubenzuron ² , teflutryna ¹ , tetrachlorvinfos ¹ , tetramethrin ¹ , thiachloprid ² , thiametoksam ^{1,2} , thiodikarb ² , tiofanoksu sulfone ² , tiofanoksu sulfoxide ² , thionazin ¹ , tralomethrin ¹ , transfluthrin ² , triazofos ¹ , trichlorfon ² , triflumuron ² , wamidotion ² , zeta-cypermethrin ¹

Tabela 1. Oznaczone substancje czynne środków ochrony roślin – cd.

Table 1. Determined active substances of plant protection products – continued

Fungicydy (120)	2-fenylofenol ¹ , acibenzolar-S-metylowy ² , ametoktradyna ² , azakonazol ^{1,2} , azoksystrobin ^{1,2} , benalaksyl ^{1,2} , benomyl ² , bentiowalikarb izopropylowy ² , bifenyli ¹ , biksafen ² , bitertanol ^{1,2} , boskalid ^{1,2} , bromukonazol ^{1,2} , bupirymat ^{1,2} , chinoksyfen ^{1,2} , chinometionat ¹ , chlorotalonil ¹ , chlozolinat ¹ , cyflufenamid ^{1,2} , cyjazofamid ² , cymoksaniol ² , cyprodynil ^{1,2} , cyprokonazol ^{1,2} , DDAC ² , dichlofluaniol ^{1,2} , dichloran ¹ , dietofenkarb ^{1,2} , difenokonazol ^{1,2} , difeniloamina ¹ , diklobutrazol ² , dimetomorfol ^{1,2} , dimoksystrobin ^{1,2} , dinikonazol ^{1,2} , dodyna ² , epoksykonazol ^{1,2} , etakonazol ^{1,2} , etyrymol ² , famoksadon ^{1,2} , fenamidon ^{1,2} , fenarimol ¹ , fenbukonazol ^{1,2} , fenfuram ² , fenheksamid ² , fenpropidyna ^{1,2} , fenpropimorfol ^{1,2} , fluchinkonazol ^{1,2} , fludioksonil ^{1,2} , fluksapyroksad ² , fluoksastrobina ² , fluopikolid ^{1,2} , fluopyram ² , flusilazol ^{1,2} , flutolanil ^{1,2} , flutriafol ^{1,2} , folpet ¹ , fuberidazol ^{1,2} , furalaksyl ² , heksachlorobenzen (HCB) ¹ , heksakonazol ^{1,2} , imazalil ^{1,2} , imibenkonazol ¹ , ipkonazol ^{1,2} , iprodion ¹ , iprowalikarb ^{1,2} , izopirazam ² , izoprotiolan ^{1,2} , kaptafol ¹ , kaptan ¹ , karbendazym ² , karboksyna ^{1,2} , krezoksym metylowy ^{1,2} , mandipropamid ² , mepanipiryml ^{1,2} , mepronil ² , metabentiazuron ² , metalaksyl ^{1,2} , metfuroksam ² , metkonazol ^{1,2} , metrafenon ^{1,2} , DMST ² , mychlobutanil ^{1,2} , oksadiksyl ^{1,2} , oksykarboksyna ² , pencykuron ^{1,2} , penflufen ² , penkonazol ^{1,2} , pentiopyrad ² , pikoksystrobin ^{1,2} , pirymetaniol ^{1,2} , prochinazyd ² , prochloraz ^{1,2} , procymidon ^{1,2} , propamokarb ² , propikonazol ^{1,2} , protiokonazol-destio ^{1,2} , pyrakarbolid ² , pyraklostrobina ^{1,2} , pyrazofos ¹ , spiroksamina ^{1,2} , tebukonazol ^{1,2} , technazen ¹ , tetrahydroftalimid (THPI) ¹ , tetrakonazol ^{1,2} , tiabendazol ² , tiofanat etylowy ² , tiofanat metylowy ² , toliofluaniol ^{1,2} , tolklofos metylowy ^{1,2} , triadimefon ^{1,2} , triadimenol ^{1,2} , triazoksyd ² , tricyklazol ² , tridemorfol ² , trifloksystrobin ^{1,2} , triflumizol ^{1,2} , triforyna ² , tritikonazol ^{1,2} , unikonazol ² , winklozolina ¹ , zoksamid ²
Fungicides (120)	2-phenylophenol ¹ , acibenzolar-S-methyl ² , ametoctradin ² , azaconazole ^{1,2} , azoxystrobin ^{1,2} , benalaxy ^{1,2} , benomyl ² , bentiavalicarb-isopropyl ² , biphenyl ¹ , bitertanol ^{1,2} , bixafen ² , boscalid ^{1,2} , bromuconazole ^{1,2} , bupirimate ^{1,2} , captafol ¹ , captan ¹ , carbendazim ² , carboxin ^{1,2} , chinomethionate ¹ , chlorothalonil ¹ , chlozolinat ¹ , cyazofamid ² , cyflufenamid ^{1,2} , cymoxanil ² , cyproconazole ^{1,2} , cyprodinil ^{1,2} , dichlofluaniol ^{1,2} , diclobutrazol ² , dicloran ¹ , didecyldimethylammonium chloride (DDAC) ² , diethofencarb ^{1,2} , difenoconazole ^{1,2} , dimethomorph ^{1,2} , dimoxystrobin ^{1,2} , diniconazole ^{1,2} , diphenylamine ¹ , dodine ² , epoxiconazole ^{1,2} , etaconazole ^{1,2} , ethirimol ² , famoxadone ^{1,2} , fenamidone ^{1,2} , fenarimol ¹ , fenbuconazole ^{1,2} , fenfuram ² , fenhexamid ^{1,2} , fenpropidin ^{1,2} , fenpropimorph ^{1,2} , fludioxonil ^{1,2} , fluopicolide ^{1,2} , fluopyram ² , fluoxastrobin ² , fluquinconazole ^{1,2} , flusilazole ^{1,2} , flutolanil ^{1,2} , flutriafol ^{1,2} , fluxapyroxad ² , folpet ¹ , fuberidazole ^{1,2} , furalaxy ² , hexachlorobenzene (HCB) ¹ , hexaconazole ^{1,2} , imazalil ^{1,2} , imibenconazole ¹ , ipconazole ^{1,2} , iprodione ¹ , iprovalicarb ^{1,2} , isoprothiolane ^{1,2} , isopyrazam ² , krezoxim-methyl ^{1,2} , mendipropamid ² , mepanipiryml ^{1,2} , mepronil ² , metalaxy ^{1,2} , metconazole ^{1,2} , methabentiazuron ² , methfuroxam ² , metrafenone ^{1,2} , myclobutanil ^{1,2} , N,N-dimethyl-N'-p-tolysulphamide (DMST) ² , oxadixyl ^{1,2} , oxycarboxin ² , penconazole ^{1,2} , pencycuron ^{1,2} , penflufen ² , penthiopyrad ² , picoxystrobin ^{1,2} , prochloraz ^{1,2} , procymidone ^{1,2} , propamocarb ² , propiconazole ^{1,2} , proquinazid ² , prothioconazole-desthio ^{1,2} , pyracarbolid ² , pyraclostrobin ^{1,2} , pyrazophos ¹ , pyrimethanil ^{1,2} , quinoxifen ^{1,2} , spiroxamine ^{1,2} , tebuconazole ^{1,2} , tecnazene ¹ , tetraconazole ^{1,2} , tetrahydrophthalimide (THPI) ¹ , tiabendazole ² , thiophanate-ethyl ² , thiophanate-methyl ² , tolclorfen-methyl ^{1,2} , tolylfluaniol ^{1,2} , triadimefon ^{1,2} , triadimenol ^{1,2} , triazoxide ² , tricyclazole ² , tridemorfol ² , trifloxystrobin ^{1,2} , triflumizole ^{1,2} , triforine ² , triticonazole ^{1,2} , uniconazole ² , vinclozolin ¹ , zoxamide ^{1,2}
Herbicydy (141)	acetochlor ¹ , aklonifen ² , alachlor ² , ametryna ² , amidosulfuron ² , atrazyna ^{1,2} , beflubutamid ² , benfluralina ¹ , bensulfuron metylowy ² , bifenoks ² , bromacyl ^{1,2} , butafenacyl ² , butralina ¹ , buturon ² , chinochlamin ^{1,2} , chinomerak ² , chizalofop-P-etylowy ^{1,2} , chlomazon ^{1,2} , chlorbromuron ² , chloridazon ^{1,2} , chloroksuron ² , chloroprofam ¹ , chlorotoluron ² , chlorsulfuron ² , chlortal dimetylowy ¹ , cycluron ² , cyjanazyna ¹ , cykloksydym ² , cynosulfuron ² , cyprazyna ^{1,2} , desmedifam ^{1,2} , dichlobenil ¹ , difenoksuron ² , diflufenikan ^{1,2} , dimefuron ² , dimetachlor ^{1,2} , dimetenamid-P ¹ , diuron ² , etametsulfuron metylowy ² , etofumesat ^{1,2} , etoksyksulfuron ² , fenchlorazol etylowy ² , fenmedifam ² , fenoksaprop etylowy ^{1,2} , fenuron ² , flazasulfuron ² , florasulam ² , fluazyfop-P-butylowy ¹ , flufenacet ^{1,2} , flumioksazylna ² , fluometuron ² , fluoroglikofen etylowy ² , fluochloridon ^{1,2} , fluoksy-pyr-1-metylheptyl ¹ , flurtamon ^{1,2} , flurydon ² , flutiacet metylowy ² , foramsulfuron ² , haloksyfop etoksyetylowy ² , haloksyfop metylowy ^{1,2} , halosulfuron metylowy ² , heksazylnon ² , imamazoks ² , izoksaben ² , izoksadifen etylowy ² , izoksafutol ² , izoproturon ² , jodosulfuron metylowy ² , karbetamid ² , karfentrazon etylowy ² , kletodym ² , klodinafop propargilowy ² , lenacyl ^{1,2} , linuron ² , mefenacet ² , metamitron ^{1,2} , metazachlor ^{1,2} , metobromuron ^{1,2} , metoksuron ² , metolachlor ¹ , metoprotryna ² , metosulam ² , metrybuzyna ^{1,2} , metsulfuron metylowy ² , mezosulfuron metylowy ² , meztotriol ² , monolinuron ² , monuron ² , napropamid ¹ , neburon ² , nikosulfuron ² , nitrofen ¹ , norflurazon ² , oksyfluorfen ¹ , pebulat ¹ , pendimetalina ^{1,2} , petoksamid ² , pikolinafen ² , pinoksaden ² , primisulfuron metylowy ² , profam ^{1,2} , profoksydym ² , prometon ² , prometryna ^{1,2} , propachizafop ^{1,2} , propachlor ¹ , propazyna ¹ , propoksykarbazon sodu ² , propyzamid ^{1,2} , prosulfokarb ^{1,2} , prosulfuron ² , pyridafol ² , pyridat ² , rimsulfuron ² , sekbumeton ² , siduron ² , sulfentrazon ² , sulfometuron metylowy ² , sulfosulfuron ² , sulkotriol ² , symazyna ^{1,2} , symetryna ² , tebutiuron ² , tembotriol ² , tepaloksydym ² , terbacyl ¹ , terbufos ¹ , terbumeton ² , terbutryna ^{1,2} , terbutylazyna ^{1,2} , tidiazuron ² , tifensulfuron metylowy ² , tiobenkarb ² , topramezon ² , tralkoksydym E ² , tralkoksydym Z ² , triasulfuron ² , tribenuron metylowy ² , trifluralina ¹ , triflusulfuron metylowy ² , tritosulfuron ²
Herbicides (141)	acetochlor ¹ , acetonifen ² , alachlor ² , ametryn ² , amidosulfuron ² , atrazine ^{1,2} , benfluralin ¹ , bensulfuron-methyl ² , beflubutamid ² , bifenox ² , bromacil ^{1,2} , butafenacil ² , buralin ¹ , buturon ² , carbetamide ² , cerfentrazone-ethyl ² , chlorbromuron ² , chloridazon ^{1,2} , chlorotoluron ² , chloroxuron ² , chlorpropham ¹ , chlorsulfuron ² , chlorthal-dimethyl ¹ , cinosulfuron ² , clethodim ² , clodinafop-propargyl ² , clomazone ^{1,2} , cyanazine ¹ , cycloxydim ² , cycluron ² , cyprazine ^{1,2} , desmedipham ^{1,2} , dichlobenil ¹ , difenoksuron ² , diflufenican (DFF) ^{1,2} , dimefuron ² , dimethachlor ^{1,2} , dimethenamid-P ¹ , diuron ² , ethametsulfuron-methyl ² , ethofumesate ^{1,2} , ethoxysulfuron ² , fenchlorazole-ethyl ² , fenoxaprop-ethyl ^{1,2} , fenuron ² , flazasulfuron ² , florasulam ² , fluazifop-P-butyl ¹ , flufenacet ^{1,2} , flumioxazin ² , fluometuron ² , fluoroglycofen-ethyl ² , fluridone ² , fluochloridone ^{1,2} , fluoxypyr-1-meptylheptyl ¹ ,

Tabela 1. Oznaczone substancje czynne środków ochrony roślin – cd.

Table 1. Determined active substances of plant protection products – continued

	flurtamone ^{1,2} , fluthiacet methyl ² , foramsulfuron ² , halosulfuron-methyl ² , haloxyfop-ethoxyethyl ² , haloxyfop-methyl ^{1,2} , exazynone ² , imazamox ² , iodofenuron-methyl ² , isoproturon ² , isoxaben ² , isoxadifen-ethyl ² , isoxaflutole ² , lenacil ^{1,2} , linuron ² , mefenacet ² , mesosulfuron-methyl ² , mesotrion ² , metamitron ^{1,2} , metazachlor ^{1,2} , methoproturyne ² , metobromuron ^{1,2} , metolachlor ¹ , metosulam ² , metoxuron ² , metribuzin ^{1,2} , metsulfuron-methyl ² , monolinuron ² , monuron ² , napropamide ¹ , neburon ² , nicosulfuron ² , nitrofen ¹ , norflurazon ² , oxyfluorfen ¹ , pebulate ¹ , pendimethalin ^{1,2} , pethoxamid ² , phenmedipham ² , picolinafen ² , pinoxaden ² , primisulfuron methyl ² , profoxydim ² , prometon ² , prometryn ^{1,2} , propachlor ¹ , propaquizafop ^{1,2} , propazine ¹ , propham ^{1,2} , propoxycarbazone-sodium ² , propyzamide ^{1,2} , prosulfocarb ^{1,2} , prosulfuron ² , pyridafol ² , pyridate ² , quinmerac ² , quinclamine ^{1,2} , quizalofop-p-ethyl ^{1,2} , rimsulfuron ² , secbumeton ² , siduron ² , simazine ^{1,2} , simetryn ² , sulcotrione ² , sulfentrazone ² , sulfometuron-methyl ² , sulfosulfuron ² , tebuthiuron ² , tembotrione ² , tepraloxymethyl ² , terbacil ¹ , terbufos ¹ , terbumeton ² , terbuthylazine ^{1,2} , terbutryn ^{1,2} , thidiazuron ² , thifensulfuron-methyl ² , thiobencarb ² , topramezone ² , traloxymethyl ² , traloxymethyl Z ² , triasulfuron ² , tribenuron-methyl ² , trifluralin ¹ , triflurosulfuron-methyl ² , tritosulfuron ²
Regulatory wzrostu (4)	flumetralina ¹ , forchlorfenuron ² , paklobutrazol ^{1,2} , trinexapak etylowy ²
Growth regulators (4)	flumetralin ¹ , forchlorfenuron ² , paclobutrazol ^{1,2} , trinexapac-ethyl ²
Inne (3)	anthrachinon ² , butoksyd piperonylu ² , mefenpyr dietylowy ²
Others (3)	anthraquinone ² , piperonyl butoxide ² , mefenpyr-diethyl ²

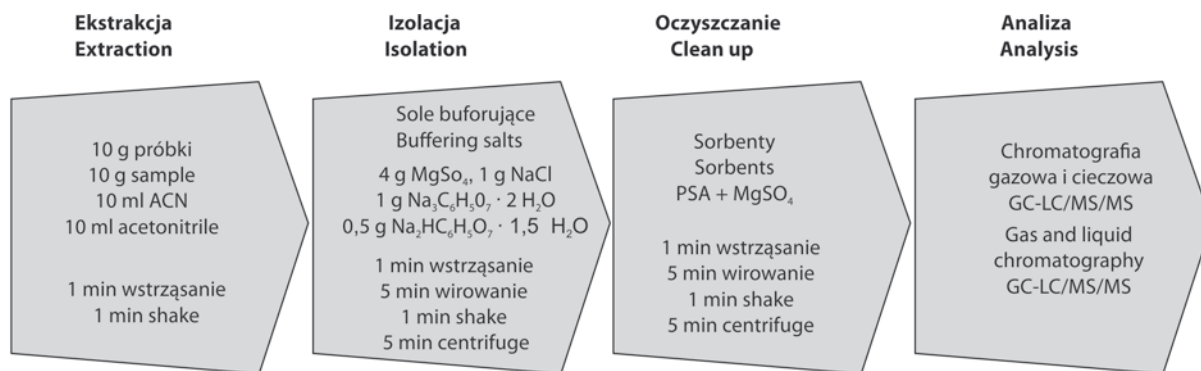
¹GC/MS/MS, ²LC/MS/MS

Następnie dodano 10 ml acetonitrylu i wytrząsano 1 minutę. Po tym dodano sole buforujące (4 g MgSO₄, 1 g NaCl, 1 g uwodnionego cytrynianu trisodu oraz 0,5 g uwodnionego wodorocytrynianu disodu). Próbkę wytrząsano 1 minutę, odwirowano przez 5 minut przy 4500 obr./min. Warstwę organiczną przeniesiono do probówki polipropylenowej, po czym oczyszczano techniką dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej (d-SPE, ang. dispersive solid phase extraction) stosując następujące mieszaniny sorbentów: (i) 10 mg PSA/150 mg MgSO₄ (ang. primary-secondary amine, pierwszo-drugorzędowa amina/bezwodny siarczan magnezu); (ii) 25 mg PSA/2,5 mg GCB (ang. graphitized carbon black, sadza grafitowana)/150 mg MgSO₄; (iii) 50 mg PSA/50 mg Chlorofiltr/150 mg MgSO₄. Całość wytrząsano, po czym odwirowano warstwę organiczną i przeniesiono bezpośrednio do fiolek (w przypadku analizy LC-MS/MS) lub oddestylowano na wyparce próżniowej i suchą pozostałość rozpuszczono w 2 ml mieszaniny heksan/acetone (9:1, v/v) (w przypadku analizy GC-MS/MS). Schemat przygotowania próbek piwa do badań przedstawia rysunek 1.

Oznaczenie jakościowe i ilościowe wykonano techniką chromatografii gazowej i cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas. Do analizy pozostałości ś.o.r. techniką chromatografii gazowej zastosowano chromatograf Agilent 7890A (Agilent Technologies, PaloAlto, CA, USA) połączony ze spektrometrem mas z trzema kwadrupolami Agilent 7000B. Separacji analitów dokonano na kolumnie HP-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm film) i oznaczono w specyficznych warunkach fragmentacji MS/MS, które zoptymalizowano indywidualnie dla każdej z analizowanych substancji. Objętość wstrzykiwanej próbki wynosiła

2 μl. Zastosowano następujący program temperaturowy pieca: 70°C => 25°C/min => 150°C => 3°C/min => 200°C => 8°C/min => 280°C (izoterma 10,0 min). Analiza jednej próbki trwała 42,25 min. Jako gaz nośny użyto hel o przepływie 2,1 ml/min. Jonizację próbki przeprowadzono za pomocą strumienia elektronów (EI, ang. electron ionisation) (energia jonizacyjna 70 eV). Jako gaz kolizyjny wykorzystano azot. Temperatura linii transferowej, źródła jonów i dwóch kwadrupoli wynosiły odpowiednio 280°C, 300°C, 180°C, 180°C.

Do analizy pozostałości ś.o.r. techniką chromatografii cieczowej zastosowano chromatograf Eksigent Ultra LC-100 (Eksigent Technologies, Dublin, CA, USA). Separację analitów przeprowadzono na kolumnie KINETEX C18 (100 mm × 2,1 mm × 2,6 μm) utrzymywanej w temperaturze 40°C. Objętość wstrzykiwanej próbki wynosiła 10 μl. Jako fazę ruchomą zastosowano: 0,5% roztwór kwasu mrówkowego z dodatkiem 2 mmol mrówczanu amonu w wodzie (faza A) i w metanolu (faza B). Elucję gradientową przeprowadzono przy natężeniu przepływu fazy ruchomej 0,50 ml/min, stosując następujący program: 0–1 min 1% fazy B => 1–12 min od 1% do 90% fazy B => 12–22 min 90% fazy B => 22–24 min od 90% do 1% fazy B => 24–30 min 1% fazy B. Zastosowano jonizację na drodze elektrorozpraszania (ESI, ang. electro spray ionization) w trybie tworzenia jonów dodatnich, charakteryzującą się następującymi parametrami: napięcie przyłożone do igły 5000 V, temperatura źródła 400°C, ciśnienie gazów: wspomaganego rozpylania 60 psi, pomocniczego 50 psi, osłownego 30 psi. Jako gaz rozpraszający i kolizyjny wykorzystano azot.



Rys. 1. Schemat przygotowania próbek piwa
Fig. 1. Scheme of sample preparation of beer

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Prawidłowe przygotowanie próbki ma zasadnicze znaczenie, gdyż determinuje jakość i wiarygodność wyniku oznaczenia. Przygotowanie ciekłej próbki piwa stanowiło wieloetapową procedurę analityczną.

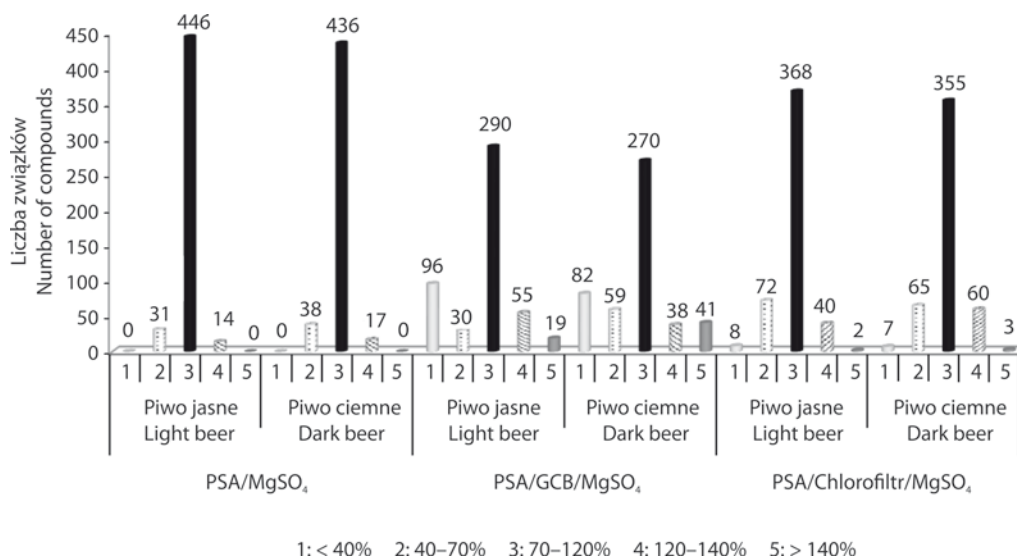
Ze względu na różną zawartość substancji interferujących badanej matrycy oraz zróżnicowane właściwości fizykochemiczne badanych analitów optymalizacja wymagała indywidualnego podejścia. Oznaczane s.c.z. wykazują bardzo zróżnicowaną: polarność (od polarnego wamidotioinu, $\log P = -4,2$ do niepolarnego pirydalilu, $\log P = 8,1$), rozpuszczalność (od najmniej rozpuszczalnej deltametryny, $\log S = -3,7$ do najbardziej rozpuszczalnego acefatu, $\log S = 5,9$) oraz lotność (od nielotnego fluchinkonazolu, $\log V.P. = -5,19$ do dichlorfosu, $\log V.P. = 3,32$). Analizowane związki należą do ponad 50 różnych grup chemicznych (benzimidazole, chloroorganiczne, fosforoorganiczne, pyretroidy, triazole i inne), a ich masy cząsteczkowe wynoszą od 141,13 g/mol (metamidofos) do 745,99 g/mol (spinosyn D) (PPDB 2021). Dodatkowym wyzwaniem było poddanie analizie związków, które są nietrwałe termicznie (kaptan czy folpet), jak i niestabilne przy określonym pH (w środowisku zasadowym dichlofluamid czy toliofluamid, a w środowisku kwaśnym amitraz czy karbosulfan) lub zatrzymujące się na powierzchni sorbentów stosowanych do oczyszczania (PSA, GCB) (chlorotalonil, dichlofluamid, toliofluamid).

W niniejszej pracy wykorzystano technikę ekstrakcji acetonitrylem, następnie izolację z dodatkiem soli buforujących, po czym oczyszczenie ekstraktu za pomocą dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej (Anastassiades i wsp. 2003).

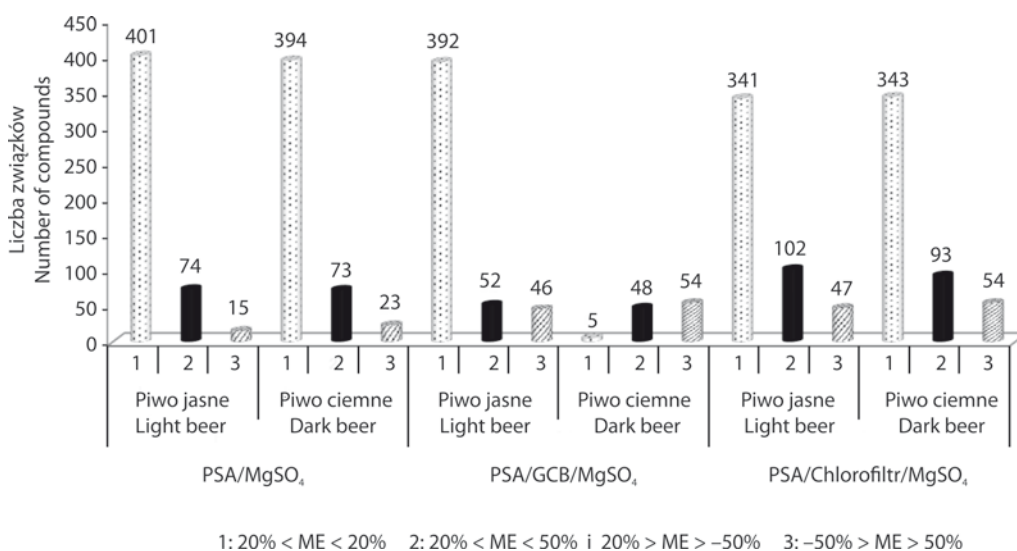
Wybór odpowiedniego sorbentu był kluczowy dla osiągnięcia skutecznego oczyszczenia z substancji interferujących ze złożonej, ciekłej matrycy piwnej (Łozowicka i wsp. 2016). Podstawowym ograniczeniem użycia wybranych pojedynczych sorbentów jest zatrzymywanie analitów na ich powierzchni. Chcąc równocześnie oznaczyć wiele związków, zastosowano kombinację sorbentów o zróżnic-

wanych właściwościach sorpcyjnych. Do badań wytypowano trzy rodzaje sorbentów i zastosowano ich odpowiednie kombinacje: (i) 10 mg PSA/150 mg MgSO₄, (ii) 25 mg PSA/2,5 mg GCB/150 mg MgSO₄, (iii) 50 mg PSA/50 mg Chlorofiltr/150 mg MgSO₄. Pierwszo-drugorzędowa amina (PSA, ang. primary-secondary amine) jest najczęściej stosowanym sorbentem o słabych właściwościach anionowymiennych w celu usunięcia kwasów organicznych, niektórych cukrów, kwasów tłuszczowych i niektórych pigmentów (Łozowicka i wsp. 2019). Sadza grafitowana (GCB, ang. graphitized carbon black) znajduje zastosowanie podczas usuwania polifenoli, steroli, czy naturalnie występujących pigmentów (Hrynkó i wsp. 2019). Wykazuje ona silne powinowactwo do cząsteczek płaskich, z tego też powodu do oczyszczania ekstraktu podczas oznaczania między innymi takich związków, jak: chlorotalonil, heksachlorobenzen (HCB), kumafos, kwintocen, terbufos, czy tiabendazol, które ulegają adsorpcji na GCB ze względu na swoją planarną budowę musi być wykorzystywana z wielką precyzją (Anastassiades i wsp. 2003). Chlorofiltr, stosunkowo nowy sorbent polimerowy do selektywnego usuwania naturalnie występujących pigmentów, bez utraty polarnych pestycydów aromatycznych jest alternatywą dla sorbentów na bazie węgla aktywnego (Walorczyk i wsp. 2015; Rutkowska i wsp. 2018).

Zastosowanie drugiej kombinacji (PSA/GCB/MgSO₄) spowodowało wzrost efektywności oczyszczania próbki poprzez usunięcie substancji interferujących (około 20% badanych pestycydów wykazało wartości ME poza zakresem $-20\% < ME < 20\%$), z drugiej strony dla około 120 analizowanych substancji uzyskano nieakceptowalne wartości odzysków ($40\% > \text{odzysk} > 140\%$). W przeprowadzonych eksperymentach zastosowanie mieszaniny trzeciej (PSA/Chlorofiltr/MgSO₄) skutkowało uzyskaniem nieakceptowalnych wartości odzysków dla 10 analizowanych związków, zarówno w przypadku piwa jasnego, jak i ciemnego. Natomiast 30% badanych s.o.r. uzyskało efekt matrycy poza dopuszczalnym zakresem. Użycie kombinacji PSA/MgSO₄ było najskuteczniejszym rozwiązaniem. Zastosowanie tej kombinacji zapew-



Rys. 2. Wpływ różnych sorbentów na odzysk pestycydów
Fig. 2. Influence of different sorbents on the extraction recovery



Rys. 3. Wpływ różnych sorbentów na efekt matrycy pestycydów
Fig. 3. Influence of different sorbents on the matrix effect

niło odzyski w akceptualnym zakresie 40–70% dla 31 i 38 związków, 70–120% dla 445 i 435 związków, 120–140% dla 14 i 17 związków, odpowiednio dla próbek piwa jasnego i ciemnego. Większość analizowanych s.o.r. (około 80%) charakteryzowała się nieistotnym efektem matrycy ($-20\% < ME < 20\%$) (SANTE/12682/2019). Wpływ badanych kombinacji sorbentów na odzysk oraz efekt matrycy w próbkach piwa jasnego i ciemnego przedstawiono na rysunku 2 i 3.

Walidację opracowanej metody przeprowadzono w oparciu o przewodnik SANTE (SANTE/12682/2019). Parametry, takie jak poprawność i precyzja, wyrażone za pomocą średniego odzysku i względnego odchylenia standardowego (RSD) pozwoliły na ocenę wydajności metody.

Odzyski sklasyfikowano na pięciu poziomach: poziom 1: $< 40\%$; poziom 2: 40–70%, poziom 3: 70–120%, poziom 4: 120–140% oraz poziom 5: $> 140\%$. Zgodnie z kryteriami przewodnika SANTE metodę można zastosować do badań, gdy wartości odzysków mieszczą się w zakresie 70–120%, a precyzja jest mniejsza od 20%. W przypadku wielopozostałościowych metod, odzysk w przedziale 40–70% oraz 120–140% jest akceptualny, pod warunkiem spełnienia pozostałych parametrów walidacyjnych.

W przeprowadzonych badaniach średnie odzyski dla większości analizowanych s.o.r. mieściły się w granicach 71,5–114,2% ze względnym odchyleniem standardowym poniżej 17% w badanym zakresie stężeń 0,005–0,500 mg/kg.

Część analizowanych związków charakteryzowała się odzykami w zakresie od 59% (kaptafol, kaptan) do 67% (omeotat, tiametoksam) oraz 121% (fluopyram, tiofanat metylowy) do 125% (paraokson metylowy i etylowy) i dobrymi pozostałymi parametrami.

Efekt matrycy określono na podstawie stosunku liczbowego współczynników kierunkowych liniowych równań regresji krzywych kalibracyjnych przygotowanych w matrycy i rozpuszczalniku. Efekt matrycy sklasyfikowano w trzech kategoriach: miękki ($-20\% < ME < 20\%$), średni ($20\% < ME < 50\%$ i $-20\% > ME > -50\%$) oraz silny ($-50\% > ME > 50\%$) (Rutkowska i wsp. 2019). Dla około 80% badanych ś.o.r. w próbkach piwa jasnego i ciemnego uzyskane wartości efektu matrycy były nieistotne. Pozostałe związki wykazały efekt matrycy w zakresie od -55% (tiabendazol) do -24% (metobromuron) oraz od 24% (etion) do 51% (metamidofos).

Zoptymalizowaną metodę wdrożono do rutynowych badań jednoczesnego oznaczenia szerokiego spektrum ś.o.r. pochodzących z różnych grup chemicznych w piwie jasnym oraz ciemnym. Przebadano 10 próbek piwa o zróżnicowanym składzie, w 2 próbkach (20% przebadanych próbek piwa) spośród 490 substancji czynnych ś.o.r., wykryto 3 związki z grupy fungicydów: boskalid (0,006 mg/kg), dimetomorf (0,007 mg/kg) oraz tiofanat metylowy (0,005 mg/kg).

Jednakże pomimo opracowania szeregu procedur analitycznych, umożliwiających jednoczesną izolację ś.o.r. o zróżnicowanej budowie chemicznej i właściwościach fizykochemicznych z materiału roślinnego, biologicznego czy środowiskowego, nadal występują problemy dotyczące zarówno przygotowania próbek, jak i ich analizy. Niejednokrotnie są one związane z obecnością w próbkach zróżnicowanej matrycy, zawierającej związki, które mogą interferować z analitami, wpływając na jakość oznaczeń analitycznych. Ponadto niska zawartość ś.o.r. w żywności wymaga wzbogacenia wyizolowanych związków z matrycy, co wydłuża procedurę przygotowania próbek. Niezbędne jest więc ciągle udoskonalanie stosowanych metod i opracowywanie nowych, które w sposób szybki, prosty, skuteczny i bezpieczny dla środowiska umożliwiałyby oznaczanie w jednym toku analitycznym ś.o.r. z różnych grup chemicznych w zróżnicowanej matrycy.

Literatura / References

- Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher D., Schenck F.J. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solidphase extraction for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International* 86 (2): 412–431. DOI: 10.1093/JAOAC/86.2.412
- Bolaños P.P., Romero-González R., Frenich A.G., Vidal J.L. 2008. Application of hollow fibre liquid phase microextraction for the multiresidue determination of pesticides in alcoholic beverages by ultra-high pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1208 (1–2): 16–24. DOI: 10.1016/j.chroma.2008.08.059
- Dušek M., Jandovská V., Olšovská J. 2018. Tracking, behavior and fate of 58 pesticides originated from hops during beer brewing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66 (38): 10113–10121. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b03416

W aktualnie dostępnej literaturze naukowej brak jest badań odnoszących się do próbek rzeczywistych. Dotychczasowe publikacje opierają się jedynie na opracowaniu metody oznaczania ś.o.r. w próbkach piwa oraz jej pełnej walidacji, jednakże nie podejmują oceny zoptymalizowanej metody w badaniach rutynowych. Hengel i wsp. (2016) przeprowadzili walidację metody 72 ś.o.r. w próbkach piwa, które stosowane są w komercyjnej produkcji chmielu, uzyskując akceptowalne parametry. Lopez i wsp. (2020) w swojej pracy opisują pełną walidację metody 14 analitów w napojach roślinnych w tym w piwie, a Omote i wsp. (2006) przeprowadzili walidację 277 ś.o.r. w piwie bazując na metodzie LLE.

W literaturze można odnaleźć również prace dotyczące trwałości pestycydów w procesie produkcji piwa. Inoue i wsp. (2011) badali zachowanie 300 ś.o.r. na każdym etapie warzenia piwa i w wyniku przeprowadzonych procesów większość pestycydów nie została wykryta w produkcie końcowym. Dušek i wsp. (2018) po wzbogaceniu próbek chmielu 58 ś.o.r. stwierdzili obecność pozostałości termostabilnych pestycydów, takich jak: azoksy-strobina, boskalid, dimetomorf, flonikamid, imidachlopryd, mandipropamid, mychlobutanil i tiametoksam w powstałym piwie. Walsh i wsp. (2016) aplikowali szyszki chmielu 11 ś.o.r., a następnie ocenili obecność dwóch pestycydów w produkcie końcowym, tj. bifenazatu (0,06–26,48 ng/ml) i boskalidu (0,21–17,27 ng/ml).

Wnioski / Conclusions

1. W procesie optymalizacji metody wybrano sorbent składający się z mieszaniny 10 mg PSA/150 mg MgSO₄, co pozwoliło na najefektywniejsze oczyszczanie ciekłej matrycy (piwa jasnego i ciemnego).
2. Zoptymalizowana procedura umożliwiła oznaczanie pozostałości 490 substancji czynnych ś.o.r. na poziomie $\geq 0,005$ mg/kg z zachowaniem akceptowalnych parametrów walidacyjnych.
3. Opisaną metodę wdrożono do badań rutynowych, poszerzając spektrum monitorowania zanieczyszczeń ś.o.r. w produktach spożywczych.

- Hengel M.J., Miller D., Jordan R. 2016. Development and validation of a method for the determination of pesticide residues in beer by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 74 (1): 49–52. DOI: 10.1094/ASBCJ-2016-1115-01
- Hrynkó I., Łozowicka B., Kaczyński P. 2019. Comprehensive analysis of insecticides in melliferous weeds and agricultural crops using a modified QuEChERS/LC-MS/MS protocol and of their potential risk to honey bees (*Apis mellifera* L.). *Science of the Total Environment* 657: 16–27. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.11.470
- Inoue T., Nagatomi Y., Suga K., Uyama A., Mochizuki N. 2011. Fate of pesticides during beer brewing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59 (8): 3857–3868. DOI: 10.1021/jf104421q
- Lopez S.H., Dias J., Mol H., Kok A. 2020. Selective multiresidue determination of highly polar anionic pesticides in plant-based milk, wine and beer using hydrophilic interaction liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1625: 461226. DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461226
- Łozowicka B., Ilyasova G., Kaczynski P., Jankowska M., Rutkowska E., Hrynkó I., Mojsak P., Szabunko J. 2016. Multi-residue methods for the determination of over four hundred pesticides in solid and liquid high sucrose content matrices by tandem mass spectrometry coupled with gas and liquid chromatograph. *Talanta* 151: 51–61. DOI: 10.1016/j.talanta.2016.01.020
- Łozowicka B., Jankowska M., Rutkowska E., Lulewicz M., Kaczyński P., Konecki R., Iwaniuk P. 2019. Wpływ sorbentów „clean-up” na odzysk i efekt matrycy w wielopozostałościowej metodzie oznaczania pestycydów w winie. [Impact of „clean-up” sorbents on the recovery and the matrix effect in the multi-residue method for the determination of pesticides in wine]. *Progress in Plant Protection* 59 (4): 206–213. DOI: 10.14199/ppp-2019-027
- Ma Ch., He Y., Cao Y., Bai X., Li H. 2016. Analysis of flavour compounds in beer with extruded sorghum as an adjunct using headspace solid-phase micro-extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of The Institute of Brewing* 122 (2): 251–260. DOI: 10.1002/jib.330
- Omote M., Harayama K., Sasaki T., Mochizuki N., Yamashita H. 2006. Analysis of simultaneous screening for 277 pesticides in malt and beer by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 64 (3): 139–150. DOI: 10.1094/ASBCJ-64-0139
- PPDB 2021. <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm> [dostęp: 03.02.2021].
- Rozporządzenie WE 2005. 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 (Dz. Urz. L 70, str. 1 z 16.03.2005).
- Rutkowska E., Łozowicka B., Kaczyński P. 2018. Modification of multiresidue QuEChERS protocol to minimize matrix effect and improve recoveries for determination of pesticide residues in dried herbs followed by GC-MS/MS. *Food Analytical Methods* 11: 709–724. DOI: 10.1007/s12161-017-1047-3
- Rutkowska E., Łozowicka B., Kaczyński P. 2019. Three approaches to minimize matrix effects in residue analysis of multiclass pesticides in dried complex matrices using gas chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chemistry* 279: 20–29. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.11.130
- SANTE/12682/2019. Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. Supersedes Document No. SANTE/2017/11813. Implemented by 01/01/2020.
- Vela N., Pérez G., Navarro G., Navarro S. 2007. Gas chromatographic determination of pesticide residues in malt, spent grains, wort, and beer with electron capture detection and mass spectrometry. *Journal of AOAC International* 90 (2): 544–549. DOI: 10.1093/jaoac/90.2.544
- Walorczyk S., Drożdżyński D., Kierzek R. 2015. Two-step dispersive-solid phase extraction strategy for pesticide multiresidue analysis in a chlorophyll-containing matrix by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1412: 22–32. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.08.022
- Walsh D.B., O’Neal S.D., George A.E., Groenendale D.P., Henderson R.E., Groenendale G.M., Hengel M.J. 2016. Evaluation of pesticide residues from conventional, organic, and nontreated hops on conventionally hopped, late-hopped, and wet-hopped beers. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 74 (1): 53–56. DOI: 10.1094/ASBCJ-2016-1115-02
- www.gov.pl/web/rolnictwo/wyszukiwarka-srodkow-ochrony-roslin [dostęp: 03.02.2021].