

## QuEChERS – metoda wielopozostałościowa (cz. II)

## Zastosowania

Leszek Ruchomski\*

**Wstęp**

Metoda QuEChERS stanowi szybką, prostą, tanią, efektywną, elastyczną oraz bezpieczną procedurę przygotowania próbek do analizy. Początkowo opracowana do oznaczania środków ochrony roślin w próbkach żywności. Od opublikowania w 2003 roku [1] cieszy się zainteresowaniem wielu badaczy o czym świadczą publikowane modyfikacje. Początkowo rozszerzana celem oznaczania pestycydów w przetworzonej żywności: soki, wina, przetwory owocowe. Obecnie znajduje zastosowanie w oznaczaniu różnych klas związków chemicznych w różnorodnych matrycach. Niniejszy artykuł stanowi krótki przegląd opracowanych zastosowań metody QuEChERS.

**Oznaczanie PBDE**

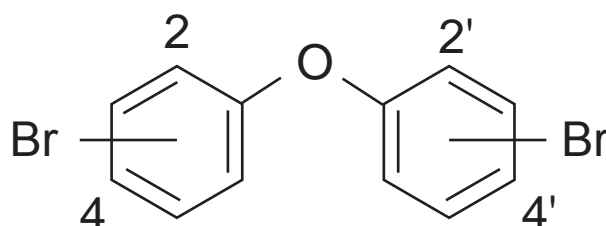
Polibromowane etery difenylowe (PBDE) stanowią dodatki do polimerów, które zmniejszają właściwości palne otrzymanych tworzyw sztucznych. Stosowane od lat sześćdziesiątych ubiegłego wieku [2]. Pierwsze badania określające zawartość PBDE w próbkach biologicznych pochodzą z 1981 roku i dotyczyły tkanek ryb [3]. W opinii naukowców kongenery PBDE zawierają-

ce od 4 do 6 atomów bromu w cząsteczce w pozycji 2,2',4,4' (rys. 1) są kancerogenami o właściwościach substancji endokrynnie czynnych, działaniu neurotoksycznym i immunotoksycznym. Podkreślana jest zależność pomiędzy występowaniem tych związków oraz chorobami cywilizacyjnymi, takimi jak: nowotwory, otyłość, czy cukrzyca [2,4,5]. W 2009 roku etery tetra-BDE, penta-BDE, heksa-BDE oraz hepta-BDE zostały dopisane jako nowe Trwałe Zanieczyszczenia Organiczne Konwencji Sztokholmskiej i znajdują się w Załączniku A, co oznacza wyeliminowanie ich z przemysłu oraz dalszych zastosowań. Zakaz stosowania zaczął obowiązywać w 2010 roku [6]. Sapozhnikova i in. [7] przeprowadzili analizę próbek ryb, celem oznaczenia zawartości wybranych kongenerów PBDE oraz dichlorodifenylo-trichloroetanu (DDT) wraz

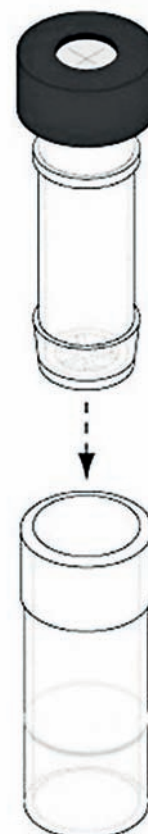
z metabolitami: dichlorodifenylo-dichloroetylen (DDE), dichlorodifenylo-dichloroetan (DDD). Próbkki analityczne stanowiły dwie tkanki rybne: kulbiniec kalifornijski (*Genyonemus lineatus*) o zawartości 4% tłuszczu oraz łosoś (gatunek nieznany) o zawartości od 5 do 10% tłuszczu. Próbkki ryb homogenizowano z dodatkiem suchego lodu i przechowywano w temperaturze  $-18^{\circ}\text{C}$ . Sprawdzenie opracowanej metody dokonano na podstawie analizy Standardowego Materiału Referencyjnego (SRM 1947).

Odważono po 4 g homogenicznych próbek do probówek polipropylenowych pojemności 50 ml, tzw. „falconów”, dodano 4 ml acetonitrylu i wytrząsano. Jako ślepa próbę zastosowano 4 ml wody dejonizowanej. Po ekstrakcji dodano 2 g mrówczanu amonu, celem rozdzielenia faz, wytrząsano i odwirowano.

Etap ten stanowi ekstrakcję z zastosowaniem jednej soli, która spowodowała migrację analitów do fazy organicznej. Z ekstraktu pobrano 0,5 ml fazy organicznej przez filtr strzykawkowy i przeniesiono do czystej probówki zawierającej 75 mg bezwodnego  $\text{MgSO}_4$ , 25 mg PSA, 25 mg C-18 oraz 25 mg sorbentu Z-Sep (etap d-SPE), wytrząsano i odwirowano. Zastosowany sorbent Z-Sep stanowi



Rys. 1. PBDE



Rys. 2. Fiolka-filtr



krzemionkę związaną z tlenkiem cyrkonu i służy usuwaniu dużej ilości tłuszczu. Oprócz możliwości nabycia samego sorbentu Z-Sep dostępne są dwa warianty komercyjne. Pierwszy (Z-Sep/C18) jest mechaniczną mieszaniną dwóch sorbentów: krzemionki modyfikowanej grupami oktadecylowymi i krzemionki związanej z tlenkiem cyrkonu. Drugi sorbent (Z-Sep+) na jednym podłożu jest modyfikowany zarówno grupami oktadecylowymi i tlenkiem cyrkonu [8,9]. Etap d-SPE przeprowadzono za pomocą fiolek-filtrów będących komercyjnym produktem, którego innowacyjność polega na możliwości przesączenia ekstraktu przez filtr w dnie fiołki i następnie oczyszczeniu z zastosowaniem sorbentów znajdujących się wewnątrz fiołki [10], rys. 2 [11]. Autorzy [7] określili, że zastosowanie fiolek-filtrów oraz sorbentów umożliwiło usunięcie od 83% do 95% związków współekstrahujących, przy użyciu acetonitrylu. Inne przebadane rozpuszczalniki (octan etylu oraz heksan) wprowadzały większe ilości interferentów.

Oznaczenie przeprowadzono techniką łączoną GC-EI-MS/MS. Rozdzielenie analitów dokonano na kolumnie Rti-5ms (15 m × 0,53 mm × 1 μm) z następującym programem temperaturowym: 70°C przez 1,5 minuty, przyrost 80°C/min do temperatury 180°C, przyrost 40°C/min do 250°C i następny 70°C/min do 290°C, w tej temperaturze 9,5 minut. Zastosowano jonizację strumieniem elektronów (EI). Potrójny kwadrupol (QqQ) był analizatorem mas w tande-

mowej spektrometrii. Temperatura linii przesyłowej (transferowej) wynosiła 280°C, a temperatura źródła jonów 320°C. Roztwory kalibracyjne sporządzono na bazie oczyszczonych ekstraktów z próbek niezawierających oznaczanych związków (ang. *matrix-matched calibration*). Krzywe kalibracyjne przygotowano dla BDE-28, BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-183, o,p'-DDT, p,p'-DDT, p,p'-DDD, o,p'-DDD, o,p'-DDE, p,p'-DDE.

Opracowana procedura analityczna pozwoliła na ilościowe oznaczenie kongenerów PBDE i DDT wraz z metaboli-

tami (DDD, DDE) w próbkach ryb oraz SRM 1947. W tabeli 1 zestawiono uzyskane wyniki, ponadto dla SRM 1947 podano dokładność. Autorzy porównali uzyskane wyniki techniką GC-MS/MS z wynikami testu ELISA (test immunoenzymatyczny) dla dwu związków BDE-47 oraz p,p'-DDE. Porównanie wskazuje, że test ELISA może służyć do wstępnego określenia poziomu tych związków, a dokładne oznaczenie powinno się odbywać techniką GC-MS/MS.

**Oznaczenie hormonów i EDC**  
Związki egzogenne zaburzające gospodarkę hormonalną

nazywane są związkami endokrynnie czynnymi – EDC (ang. *endocrine disrupting compounds*). Szkodliwe działanie EDC może być konsekwencją wiązania, zaburzenia transportu lub eliminacji naturalnych hormonów [12]. Skutkami narażenia na związki endokrynnie czynne są: zmniejszenie płodności oraz zaburzenia zachowania (zaburzenia neurobehawioralne). Ilościowe oznaczenie hormonów oraz EDC w tkankach biologicznych jest utrudnione ze względu na złożoność matrycy, szczególnie dużą zawartość tłuszczu, co wymaga zastosowania pracochłonnej i skomplikowanej procedury przygotowania próbek do analizy.

Ehling i in. [13] przeprowadzili walidację metody celem oznaczenia siedemnastu hormonów weterynaryjnych, w tym: nandrolon, norgestymat, dietylstilbestrol, deksametazon, występujących w proszkowych produktach otrzymanych z mleku krowiego, potocznie nazywanych „mlekiem w proszku”. Badania mają duże znaczenie dla konsumentów, a szczególnie małych dzieci. Metoda została opracowana dla różnych matryc, m. in. mleka pełnego w proszku, beztłuszczowego mleka w proszku, koncentratu białka z mleka w proszku, koncentratu białka serwatki w proszku. Tabela 2 przedstawia udział procentowy białka, laktozy (głównego cukru), tłuszczu, pozostałej wody oraz związków nieorganicznych w proszkach otrzymanych z mleka oraz maślanek.

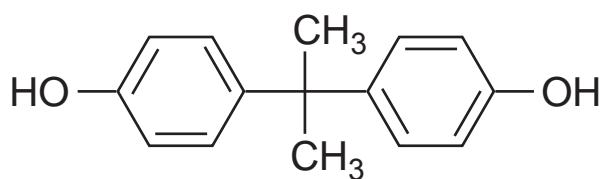
Do analizy odważano po 1 g proszkowych produktów

Tabela 1. Wyniki oznaczeń PBDE i DDT w próbkach ryb [7]

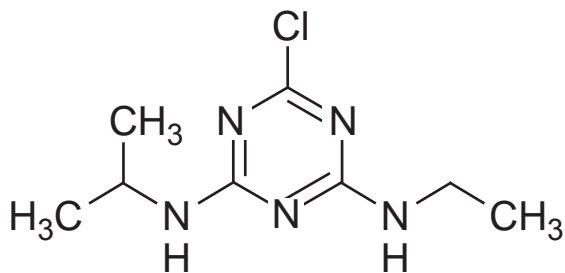
Związek	Zawartość [ng/g]			
	Kulbiniec kalifornijski	Łosoś	SRM 1947	Dokładność [%]
p,p'-DDD + o,p'-DDT	457 ± 63	1,64 ± 0,15	57,7	94
o,p'-DDD	26 ± 2	–	3,9	119
o,p'-DDE	1210 ± 110	–	2,9	87
p,p'-DDE	10200 ± 670	9,8 ± 1,1	753	105
p,p'-DDT	23 ± 2	–	57,5	97
BDE-28	1,9 ± 0,2	–	1,95	86
BDE-47	173 ± 8	1,9 ± 0,1	68,3	93
BDE-99	7,8 ± 0,9	–	14,5	76
BDE-100	34,7 ± 1,7	–	11,9	70
BDE-153	4,0 ± 0,6	–	3,8	100
BDE-154	6,5 ± 0,2	–	8,3	122
BDE-183	–	–	–	–

Tabela 2. Ogólny skład proszków otrzymanych z mleka i maślanek [14]

Składnik	Rodzaj proszku mlecznego		
	Mleko pełne	Mleko odtłuszczone	Maślanek
Białko [%]	26,0	36,0	34,0
Laktoza [%]	37,0	51,0	48,5
Tłuszcz [%]	27,0	0,8	5,0
Woda [%]	4,0	4,0	4,0
Związki nieorganiczne [%]	6,0	8,2	8,5



Rys. 3. Bisfenol A



Rys. 4. Atrazyna

mlecznych i rozpuszczono w 10 ml mieszaniny woda/metanol (obj. 90:10) zawierającej 1% kwas mrówkowy i wytrząsano. Dodatek mieszaniny wody z metanolem (zamiast samej wody) dawał lepsze efekty rozdzielania faz na etapie wysalania, po przedniej ekstrakcji. Dodano 10 ml acetonitrylu i ponownie wytrząsano (ekstrakcja). Zawartość próbek przeniesiono do próbek o pojemności 50 ml, w których znajdował się zestaw soli ekstrakcyjnych 4 g bezwodnego  $MgSO_4$ , 1 g NaCl, 1,5 g dwuwodnego cytrynianu sodu, 0,5 g półtorawodnego wodorocytrynianu sodu [15], wytrząsano i odwirowano. Pobrano (w zależności od próbki) od 8,5 ml do 10,5 ml i przeniesiono do czystej próbki. Ekstrakty zatężono do objętości 1 ml w strumieniu azotu w temperaturze 55°C. Oczyszczono z zastosowaniem sorbentów:

150 mg bezwodnego  $MgSO_4$ , 25 mg PSA oraz 25 mg C-18 [16]. Wytrząsano, odwirowano i przeniesiono od 0,5 ml do 0,7 ml oczyszczonego ekstraktu do próbek szklanych i zatężono do objętości 0,1 ml w strumieniu azotu.

Mleko pełne w proszku nie zawierające oznaczanych analitów poddano całej procedurze, a następnie dodano odpowiednie ilości analitów, aby otrzymać roztwory kalibracyjne na różnych poziomach stężeń (ang. *matrix-matched calibration*). Kontrole jakości dokonano w oparciu o hormony deuterowane. Oznaczenie ilościowe dokonano techniką UPLC-ESI-QqQ-MS/MS. Rozdzielnia analitów przeprowadzono na kolumnie Acquity Uplc Beh C18 (100 mm × 2,1 mm × 1,7 μm) termostatowanej w 60°C. W elucji gradientowej użyto dwóch roztworów: 0,1% kwasu mrówkowego w wodzie oraz

roztworu zawierającego 0,1% kwasu mrówkowego w metanolu. Hormony jonizowano poprzez elektrorozpylenie (ESI) w trybie jonów dodatnich (ESI+). Na podstawie monitorowania wielu reakcji fragmentacji – MRM (ang. multiple reaction monitoring) ustalono zawartości poszczególnych związków w próbkach; jedna reakcja fragmentacji służyła określeniu zawartości danego analitu, a druga reakcja fragmentacji – do potwierdzenia obecności danego związku. Autorzy publikacji [13] wskazują na możliwość wdrożenia opracowanej metody w rutynowych badaniach hormonów weterynaryjnych w proszkowych produktach pochodzących z mleka krowiego.

Pouech i in. [17] dokonali modyfikacji metody QuEChERS celem oznaczeń hormonów i związków EDC w jądrach szczurów. W ciągu dwóch tygodni dorosłe szczury laboratoryjne otrzymywały między innymi bisfenol A (rys. 3) oraz atrazynę (rys. 4), które należały do związków EDC. Po tym czasie uśmiercono je pentobarbitalem. Badaniom poddano również trzy dorosłe osobniki, które nie zostały wystawione na działanie tych związków. Zebrane jądra szczurów ujednolicono (homogenizacja) i kondycjonowano w buforze fosforanowy sporządzonym w roztworze soli fizjologicznej – PBS (ang. *phosphate-buffered saline*): 1 μl buforu na 1 mg tkanki.

Do ekstrakcji pobrano od 1 g do 3 g próbek do próbek wirówkowych, dodano roztwory wzorcowe zawierające deuterowane związki i od-

wirowano. Dodano taką objętość acetonitrylu, aby jego stosunek do wody wynosił 2,6, a następnie 3 g mieszaniny soli ekstrakcyjnych o ogólnym składzie 4 g  $MgSO_4$ , 1 g NaCl, 1 g dwuwodnego cytrynianu sodu i 0,5 g półtorawodnego wodorocytrynianu sodu. Użyte dwa zestawy sorbentów w etapie d-SPE; pierwszy o składzie: 150 mg  $MgSO_4$  i 25 mg PSA oraz drugi o składzie: 150 mg  $MgSO_4$ , 25 mg PSA oraz 25 mg GCB sorbowały oznaczane anality. Z tego powodu oczyszczanie ekstraktu zastąpiono dodatkiem heksanu, do którego migrowały zanieczyszczenia niepolarnie (kwasy tłuszczowe, tłuszcze i denaturowane białko, ze względu na większe powinowactwo do heksanu niż acetonitrylu). Pobrano 350 μl fazy acetonitrylowej do fiolki i odparowano w strumieniu gazu obojętnego, a następnie rozpuszczono w 105 μl mieszaniny wodna/acetonitryl (obj. 80:20) i dodano  $^{13}C$ -fenacetyny (wzorzec odzysku). Przygotowane próbki poddano oznaczeniu techniką LC-ESI-QqQ-MS/MS. Objętość dozowanej próbki wynosiła 5 μl. Rozdzielenie chromatograficzne przeprowadzono na kolumnie Zorbax Eclipse Plus C18 (50 mm × 2,1 mm × 1,8 μm). Zastosowano elucję gradientową: jeden roztwór stanowił 0,01-mM octanu amonu w wodzie, drugi rozpuszczalnik stanowił acetonitryl, a szybkość przepływu 300 μl/min. W trybie dodatnim (ESI+) jonizowano atrazynę, testosteron (rys. 5) i 4-androsten-3,17-dion (rys. 6), natomiast bisfenol A



w trybie ujemnym (ESI<sup>-</sup>). Jonizacja ESI<sup>+</sup> jest mniej selektywna niż ESI<sup>-</sup> względem matrycy i wnosi więcej zanieczyszczeń. Odzysk związków znajdował się w granicy od 89% do 108%. W tabeli 3 znajdują się wyniki uzyskane podczas analizy jąder szczurów poddanych ekspozycji na atrazynę, bisfenol A oraz osobników nie poddanych ekspozycji na te związki (próbka 1, 2 i 3).

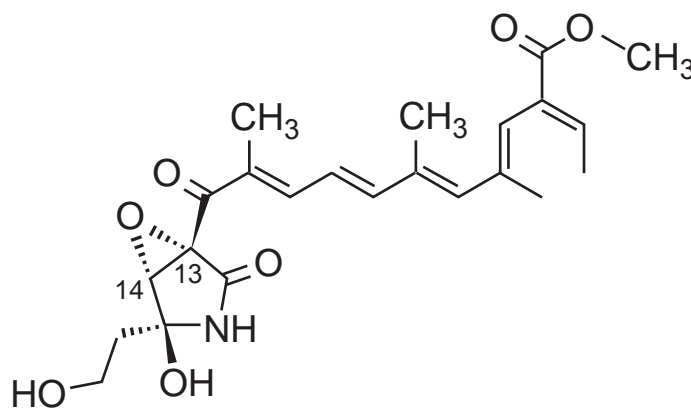
**Oznaczanie mykotoksyn**

Mykotoksyny inaczej nazywane mikotoksynami są wtórnymi metabolitami grzybów o działaniu chorobotwórczym lub toksycznym. Z tego powodu istotne staje się kontrolowanie zawartość tej grupy związków chemicznych w żywności. Wykazano, że spożywanie produktów na bazie kukurydzy zawierającej fuzarynę C (rys. 7) powo-

Tabela 3. Wyniki oznaczeń hormonów i EDC w jądrach szczurów [17]

Związek	Zawartość [ng/g]				
	Ekspozycja na atrazynę	Ekspozycja na bisfenol A	Próbka 1	Próbka 2	Próbka 3
Bisfenol A	<LOQ	83,2	–	–	–
Atrazyna	11,9	0,41	–	–	–
Testosteron	77,9	97,8	205	31	104
Androstenodion	9,88	7,5	40,9	5,49	17,8

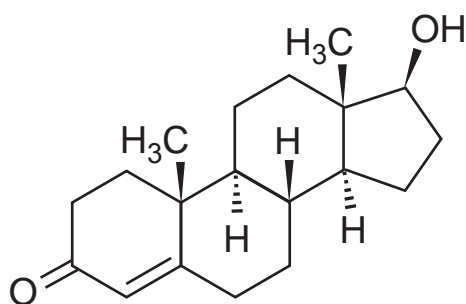
duje częstsze występowanie nowotworów przełyku [18]. Ponadto, jest mutagenna ze względu na obecność ugrupowania epoksydowego w pierścieniu przy atomach węgla numer 13 i 14. Fuzaryna C pod wpływem promieniowania UV tworzy kilka stereoizomerów [19]. Fuzaryny nie posiadające ugrupowania epoksydowego nie wykazują działania mutagennego [20]. Kleigrewe i in. [21] oznaczyli zawartość fuzaryny C w kukurydzy i produktach spożywczych. Ziarna kukurydzy



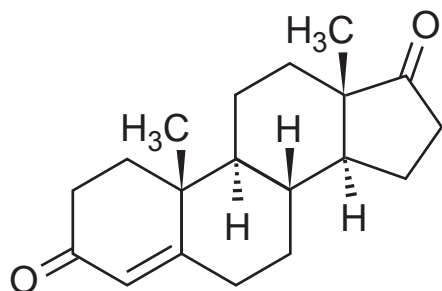
Rys. 7. Fuzaryna C

wysuszono poprzez liofilizację i zhomogenizowano. Odważono po 5 g próbki do probówek o pojemności 50 ml i dodano 5 ml wody oraz 15 ml acetonitrylu, wytrząsano. Kolejno dodano 4 g bezwodnego MgSO<sub>4</sub> i 1 g NaCl, wytrząsano i odwirowano. Pobrano 5 ml warstwy acetonitrylowej i przeniesiono do mniejszej próbówki, w której znajdowało się 750 mg MgSO<sub>4</sub> oraz 125 mg PSA, następnie wytrząsano i odwirowano. Pobrano 3 ml oczyszczonego ekstraktu i odparowano do sucha. Suchą pozostałość rozpuszczono w 500 µl roztworu metanol/woda (obj. 50:50). Próbki pasz i żywności zostały przygotowane z modyfikacją polegającą na pobraniu 5 ml warstwy acetonitrylowej do etapu d-SPE i oczyszcze-

niu z wykorzystaniem 1,5 g MgSO<sub>4</sub> oraz 250 mg PSA. Po tym etapie pobrano 2,8 ml i postępowano identycznie jak z próbkami kukurydzy. Rozdzielenie chromatograficzne przeprowadzono za pomocą chromatografu cieczowego na kolumnie Zorbax Eclipse XDB-C18 (150 mm × 2,1 mm × 5 µm) termostawianej w 40°C. W elucji izokratycznej zastosowano 55% udział mieszaniny metanolu z 5% dodatkiem tetrahydrofuranu oraz czystej wody, jako drugiego rozpuszczalnika. Objętość dozowanego oczyszczonego ekstraktu wynosiła 30 µl, a prędkość przepływu fazy ruchomej 300 µl/min. Detektorem była tandemowa spektrometria mas z potrójnym kwadrupolem, a techniką jonizacji ESI<sup>+</sup>. Identyfikacja dokonano w oparciu



Rys. 5. Testosteron



Rys. 6. Androstendion

o MRM. Kalibrację przeprowadzono z uwzględnieniem efektów matrycowych (ang. *matrix-matched calibration*). Granica wykrywalności (LOD) opracowanej metody wynosiła 2 µg/kg, granica oznaczalności (LOQ) 7 µg/kg, a poziom odzysku 80%. Spośród 25 próbek kłosów kukurydzy obecność fuzaryny C stwierdzono w 14 próbkach, najniższe stężenie wynosiło 14 µg/kg, a najwyższe 84 mg/kg (tabela 4). Metodę sprawdzono również dla mąki kukurydzianej i prażonej kukurydzy (ang. *popcorn*). W czterech próbkach mąki kukurydzianej stwierdzono obecność fuzaryny C poniżej granicy oznaczalności, a w jednej nie stwierdzono jej obecności. Trzy próbki z sześciu kukurydzy do prażenia

zwierały  $27 \pm 2$  µg/kg fuzaryny C, jedna poniżej LOQ, a dwie pozostałe – brak obecności oznaczanej mykotoksyny. Nielsen i in. [22] zmodyfikowali metodę QuEChERS do oznaczania ochratoksyny A (rys. 8) oraz fumonizyny B<sub>2</sub> (rys. 9) w różnych rodzajach kawy. Do analizy odważono po 5 g kawy zielonej lub kawy palonej oraz 2 g kawy rozpuszczalnej i dodano 40 ml mieszaniny acetonitrylu/wody/kwas mrówkowy (obj. 49:49:2). Ciecz z nad osadu (około 30 ml) przeniesiono do nowej próbki i dodano 4 g bezwodnego MgSO<sub>4</sub> oraz 1 g NaCl. Wytrząsano, odwirowano, przesączono i pobrano 1,9 ml do nowej próbki, dodano wzorce znaczone izotopami <sup>13</sup>C<sub>20</sub>–ochratoksyna A, <sup>13</sup>C<sub>34</sub>–fumonizyny B<sub>2</sub> oraz 9 ml

Tabela 4. Wyniki oznaczeń fuzaryny C w kukurydzy [21]

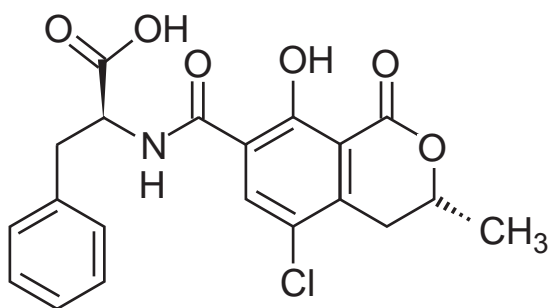
Nr próbki	Zawartość fuzaryny C [µg/kg]
1	84000 ± 600
2	12000 ± 0
3	1600 ± 0
4	1500 ± 100
5	691 ± 27
6	319 ± 13
7	368 ± 6
8	352 ± 13
9	256 ± 28
10	37 ± 2
11	31 ± 1
12	28 ± 3
13	21 ± 1
14	14 ± 2
15-22	< LOQ
23-25	nie wykryto

wody i odwirowano. Próbkę przeniesiono na kolumnę ekstrakcji do fazy stałej (SPE) wypełnioną sorbentem anionowymymiennym, który stanowił aminę czwartorzędową (Oasis Max, 200 mg x 60 µm). Mykotoksyny eluowano 3 ml acetonitrylu zawierającego 2% kwasu mrówkowego. Próbki odparowano do sucha w atmosferze azotu w tempe-

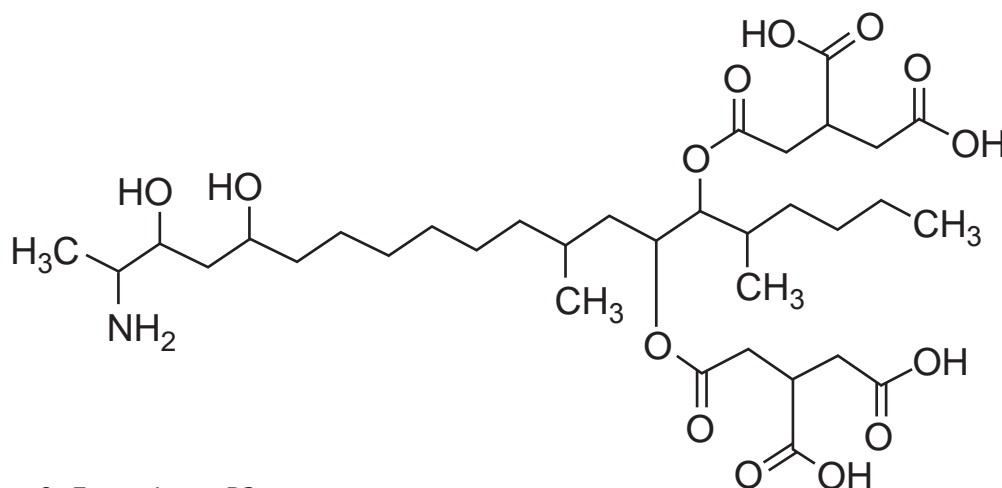
raturze 50°C i rozpuszczono w 400 µl mieszaniny acetonitrylu/woda (obj. 50:50).

Oznaczenie przeprowadzono za pomocą UPLC-ESI-QqQ-MS/MS. Rozdzielenie analitów dokonano na kolumnie Poroshell Hexyl-Phenyl (100 mm x 2 mm x 2,6 µm), która była termostatowana w 40°C. Zastosowano elucję gradientową z użyciem dwóch roztworów: wody zawierającej 20 mM kwasu mrówkowego oraz acetonitrylu z 20% dodatkiem izopropanolu – elucja gradientowa. Szybkość przepływu fazy ruchomej 400 µl/min.

Podczas sporządzania roztworów kalibracyjnych (ang. *matrix-matched calibration*) badacze postąpili nieco inaczej. Do próbek kawy rozpuszczalnej, zielonej oraz palonej dodano różne objętości roztworów oznaczanych mykotoksyn, przy czym jedna pozostała bez dodatku wzorców. Wzbogacone próbki przechowywano przez noc ze swobodnym dostępem powietrza, aby umożliwić odparowanie nadmiaru rozpuszczalnika. Następnego dnia wszystkie próbki poddano opisanej powyżej procedurze. W celu kontroli uzyskanych wyników zastosowano wzorce znaczone izotopami węgla <sup>13</sup>C<sub>20</sub>–ochratoksyna A oraz <sup>13</sup>C<sub>34</sub>–fumonizyna B<sub>2</sub>. Ochratoksyna A była obecna w około połowie próbek rzeczywistych, co prezentuje tabela 5. Fumonizyna B<sub>2</sub> ulega rozkładowi podczas przetwarzania i z tego powodu nie stwierdzono jej obecności w próbkach kawy palonej i rozpuszczalnej, co ilustruje tabela 6.



Rys. 8. Ochratoksyna A



Rys. 9. Fumonizyna B2



## Podsumowanie

Przedstawiony powyżej przegląd modyfikacji metody QuEChERS stanowi zaledwie część spośród wszystkich opublikowanych w literaturze. Można wymienić między innymi oznaczanie osiemnastu antybiotyków weterynaryjnych w mleku techniką UPLC-ESI-QqQ-MS/MS [24], oznaczanie antybiotyków weterynaryjnych w mięsie drobiowym techniką LC-ESI-QqQ-MS/MS [25], oznaczanie trihalometanów w próbkach gleby za pomocą szybkiej chromatografii gazowej z mikrodetektozem wychwyty elektronów (FGC- $\mu$ ECD) [26] lub oznaczanie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w świeżych ziołach techniką GC-EI-MS z jonizacją strumieniem elektronów i pułapką jonową (IT) – analizatorem mas [27]. Tandemowy spektrometr mas jest najczęściej wykorzystywanym detektorem w metodzie QuEChERS. Umożliwia identyfikację analitu na podstawie czasu retencji oraz widma mas, co stanowi ograniczenie wpływu matrycy w oznaczeniu ilościowym. Jest znacznie tańszy niż wysokorozdzielczy spektrometr mas (HRMS) i z tego powodu znajduje zastosowanie w komercyjnych laboratoriach [28,29]. Nie ulega wątpliwości, że metoda jest znacznym uproszczeniem dla analityków i usprawnieniem pracy w laboratorium. Mniej manualnych czynności w trakcie przygotowania próbki skutkuje również mniejszym błędem mogącym się pojawić podczas preparatyki.

Tabela 5. Wyniki oznaczeń ochratoksyny A w różnych rodzajach kawy [22]

Próbka	Liczba próbek	Liczba próbek pozytywnych	Średnia zawartość w próbkach pozytywnych [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Zawartość maksymalna [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Dopuszczalna zawartość [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] [23]
Kawa palona	57	26	2,3	21	5,0
Kawa zielona	18	7	1,7	2,8	5,0
Kawa rozpuszczalna	25	14	4,5	8,3	10,0

Tabela 6. Wyniki oznaczeń fumonizyny B<sub>2</sub> w różnych rodzajach kawy [22]

Próbka	Liczba próbek	Liczba próbek pozytywnych	Średnia zawartość w próbkach pozytywnych [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Zawartość maksymalna [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]
Kawa palona	57	0	nw	nw
Kawa zielona	18	8	25	134
Kawa rozpuszczalna	25	0	nw	nw
nw – nie wykryto				

## Literatura

- [1] Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbacher D., Schenck F.J., *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., 2003, 86: 412–431
- [2] Konstantinov A., Bejan D., Bunce N.J., Chittim B., McCrindle R., Potter D., Tashiro C., *Electrolytic debromination of PBDEs in DE-83TM technical decabromodiphenyl ether*, Chemosphere, 2008, 72: 1159–1162
- [3] Andersson Ö., Blomkvist G., *Polybrominated aromatic pollutants found in fish in Sweden*, Chemosphere, 1981, 10: 1051–1060
- [4] Birnbaum L.S., Staskal D.F., *Brominated flame retardants: cause for concern?* Environ. Health Perspect., 2004, 112: 9–12
- [5] Hwang H.M., Park E.K., Young T.M., Hammock B.D., *Occurrence of endocrine-disrupting chemicals in indoor dust*, Sci. Total Environ., 2008, 404: 26–35
- [6] The new POPs under the Stockholm Convention, [chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/TheNewPOPs/tabid/2511/Default.aspx](http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/TheNewPOPs/tabid/2511/Default.aspx), dostęp 09.08.2015
- [7] Sapozhnikova Y., Simons T., Lehotay S.J., *Evaluation of a Fast and Simple Sample Preparation Method for Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE) Flame Retardants and Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) Pesticides in Fish for Analysis by ELISA Compared with GC-MS/MS*, J. Agric. Food Chem., 2015, 63: 4429–4434
- [8] Supel QuE (Dispersive SPE) for "QuEChERS" Method, Sigma-Aldrich, 2014
- [9] Analysis of Pesticides by QuEChERS - Application of Z-Sep Family of Sorbents for Cleanup, Sigma-Aldrich, 2012
- [10] Thomson Single StEP Filter Vials, [www.restek.com/pdfs/GNTS1802A-UNV.pdf](http://www.restek.com/pdfs/GNTS1802A-UNV.pdf), dostęp 10.07.2015
- [11] Schnelle Online-Probenfiltration in der UHPLC, [www.laborpraxis.vogel.de/meldungsarchiv/articles/291414/](http://www.laborpraxis.vogel.de/meldungsarchiv/articles/291414/), dostęp 20.07.2015
- [12] Chang H.S., Choo K.H., Lee B., Choi S.J., *The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) in water*, J. Hazard. Mater., 2009, 172: 1–12
- [13] Ehling S., Reddy T.M., *Liquid chromatography-mass spectrometry method for the quantitative determination of residues of selected veterinary hormones in powdered ingredients derived from bovine milk*, J. Agric. Food Chem., 2013, 61: 11782–11791
- [14] Karen S., *Dried Dairy Ingredients*, Wisconsin Center for Dairy Research, 2008
- [15] QuEChERS Dispersive Solid Phase Extraction, [www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186004837](http://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186004837), dostęp 10.08.2015
- [16] DisQuE QuEChERS sample preparation products and kits, Waters Corporation, 2015

- [17] Pouech C., Tournier M., Quignot N., Kiss A., Wiest L., Lafay F., Flament-Waton M.M., Lemazurier E., Cren-Olivé C., *Multi-residue analysis of free and conjugated hormones and endocrine disruptors in rat testis by QuEChERS-based extraction and LC-MS/MS*, Anal. Bioanal. Chem., 2012, 402: 2777–2788
- [18] Cheng S.J., Jiang Y.Z., Li M.H., Lo H.Z., *A mutagenic metabolite produced by Fusarium moniliforme isolated from Linxian county, China*, Carcinogenesis, 1985, 6: 903–905
- [19] Gelderblom W.C.A., Thiel P.G., van der Merwe K.J., Marasas W.F.O., Spies H.S.C., *A mutagen produced by Fusarium moniliforme*, Toxicol., 1983, 21: 467–473
- [20] Gelderblom W.C.A., *The chemical and biological properties of Fusarin C, a secondary mutagenic metabolite produced by Fusarium moniliforme Sheldon*, rozprawa doktorska, Uniwersytet Stellenbosch, 1986
- [21] Kleigrewe K., Söhnel A.C., Humpf H.U., *A new high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method based on dispersive solid phase extraction for the determination of the mycotoxin fusarin C in corn ears and processed corn samples*, J. Agric. Food Chem., 2011, 59: 10470–10476
- [22] Nielsen K.F., Ngemela A.F., Jensen L.B., de Medeiros L.S., Rasmussen P.H., *UHPLC-MS/MS determination of ochratoxin A and fumonisins in coffee using QuEChERS extraction combined with mixed-mode SPE purification*, J. Agric. Food Chem., 2015, 63: 1029–1034
- [23] Rozporządzenie Komisji nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych
- [24] Aguilera-Luiz M.M., Vidal J.L., Romero-González R., Freñich A.G., *Multi-residue determination of veterinary drugs in milk by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry*, J. Chromatogr. A., 2008, 1205: 10–16
- [25] Stubbings G., Bigwood T., *The development and validation of a multiclass liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) procedure for the determination of veterinary drug residues in animal tissue using a QuEChERS (QUick, EASY, CHEap, EFFECTive, RUGged and SAFE) approach*, Anal. Chim. Acta, 2009, 637: 68–78
- [26] Herrero Martín S., García Pinto C., Pérez Pavón J.L., Moreno Cordero B., *Determination of trihalomethanes in soil matrices by simplified quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction and fast gas chromatography with electron capture detection*, J. Chromatogr. A, 2010, 1217: 4883–4889
- [27] Sadowska-Rociek A., Surma M., Cieślak E., *Application of QuEChERS Method for Simultaneous Determination of Pesticide Residues and PAHs in Fresh Herbs*, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 2013, 90: 508–513
- [28] Eitzer B.D., Hammack W., Filigenzi M., *Interlaboratory comparison of a general method to screen foods for pesticides using QuEChERS extraction with high performance liquid chromatography and high resolution mass spectrometry*, J. Agric. Food Chem., 2014, 62: 80–87
- [29] Grochowalski A., *Badania nad oznaczaniem polichlorowanych dibenzodioxyn, dibenzofuranów i bifenyli*, Zeszyty Naukowe Politechniki Krakowskiej, Monografia 272, Kraków, 2000

\* mgr inż. Leszek Ruchomski; [leszekruchomski@gmail.com](mailto:leszekruchomski@gmail.com)

## BazTech – kopalnia wiedzy

Baza danych o zawartości polskich czasopism technicznych BazTech jest bibliograficzno-abstraktową bazą danych rejestrującą od 1998 r. artykuły z 645 polskich czasopism z zakresu nauk technicznych, ścisłych i ochrony środowiska. BazTech rozwija się w kierunku pełnotekstowej bazy cytowań. Do opisów artykułów dodawane są bibliografie załącznikowe (od 2006 r.), a na podstawie odrębnych umów z wydawcami rekordy uzupełniane są o pełne teksty artykułów. Tymi działaniami baza wpisuje się w ruch otwartej nauki.

W bazie zamieszczone są również artykuły z archiwalnych numerów LAB. Szukaj pod adresem: [yadda.icm.edu.pl/baztech/](http://yadda.icm.edu.pl/baztech/)

