

SBORNÍK PŘÍSPĚVKŮ

XXXV. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin

24. – 26. 5.2004

Skalský Dvůr

**Odborná skupina pro potravinářskou a agrikulturní chemii České
společnosti chemické**

Odbor potravinářské techniky a technologie ČAZV

Odbor výživy obyvatelstva a jakosti potravin ČAZV

Výzkumný ústav potravinářský Praha

Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha

**Ed. Holasová M., Fiedlerová V., Špicner J.
VÚPP, Praha 2004**

ISBN 80-902671-8-1

APLIKACE NOVÝCH TECHNIK V GC ANALÝZE REZIDUÍ PESTICIDŮ V POTRAVINÁCH

Čajka T., Hajšlová J.

Ústav chemie a analýzy potravin, VŠCHT Praha, Technická 3, 166 28 Praha 6

Nejnovější toxikologické studie indikují potřebu minimalizovat dietární expozici populace reziduí pesticidů, což se v praxi projevuje snižováním nejvyšších povolených množství (MRL) „moderních“ pesticidů. Z tohoto důvodu je nutné mít k dispozici takové analytické metody, které umožňují stanovit s dostatečnou přesností někdy až extrémně nízké koncentrace těchto látek. V poslední době se v analýze pesticidů stále více uplatňují tzv. multiresiduální metody (MRM), s jejichž pomocí lze stanovit větší počet analytů najednou. Důvodů k jejich zavádění je hned několik:

- vzrůstající počet registrovaných pesticidů, přičemž spolu s nimi je často třeba stanovit i jejich toxikologicky významné metabolity;
- ve většině případů nemá analytik dostatečné informace o „historii“ vzorku, tj. o tom, kterými pesticidy byla daná komodita ošetřena, zda nedošlo ke kontaminaci z jiného zdroje, apod.;
- ekonomické důvody – zavedení MRM vede většinou ke snížení ceny analýzy a zkrácení doby nutné k jejímu provedení.

Vzhledem k tomu, že pesticidy představují skupinu látek, které mají různé biologické účinky, ale mnohdy také značně odlišné fyzikálně chemické vlastnosti, je nezbytné optimalizovat každý krok dané metody (od přípravy vzorku, přes izolaci reziduí, přečištění až po vlastní stanovení) tak, aby byla metoda použitelná pro co nejširší spektrum látek. Zároveň je také žádoucí, aby bylo možné danou MRM aplikovat na různé typy matic.

Pro vlastní stanovení analytů (jejich identifikaci a kvantifikaci) se nejčastěji využívá některá z chromatografických technik, přičemž nejširší uplatnění v reziduální analýze pesticidů nalezla plynová chromatografie (GC) ve spojení s různými detektory, nejčastěji jde o detektor dusíko-fosforový (NPD), elektronového záchyty (ECD) či hmotnostně-spektrometrický (MSD).

Výhody GC s MS detekcí oproti výše uvedeným metodám detekce zahrnují:

- souběžné stanovení a konfirmaci sledovaných analytů;
- detekce různých skupin analytů nezávisle na elementárním složení;
- možnost kvantitativně analyzovat koeluované píky sledováním více iontů.

Kvadrupól představuje pravděpodobně nejvíce používaný hmotnostní analyzátor, avšak pro dosažení uspokojivé citlivosti ve stopové analýze musí být používán v módu monitorování vybraných iontů (SIM), což je spojeno se značnou ztrátou spektrálních informací. Obdobná nevýhoda je spojena s analyzátořem typu iontová past, kde pro dosažení vyšší selektivity je nutno pracovat v módu MS/MS.

Použití hmotnostních analyzátorů využívajících pro separaci iontů rozdílnou dobu průletu jednotlivých iontů letovou trubicí (*time-of-flight*, TOF) ve spojení s plynovou chromatografií představuje inovativní přístup v reziduální analýze. V současnosti existují dva typy průletových hmotnostních spektrometrů, které jsou vzájemně komplementární. První skupinu představují přístroje, které nabízejí vysoké hmotnostní rozlišení (navíc s možností přesného určení hmoty), avšak disponují malou akviziční rychlostí (obvykle do 10 spekter/s). Druhou skupinu tvoří přístroje s vysokou akviziční rychlostí (až do 500 spekter/s), které však poskytují jen jednotkové hmotnostní rozlišení, lze je však použít ve spojení s rychlou chromatografií, popř. s technikou GC×GC. Oba typy instrumentací však narozdíl od kvadrupólu a iontové pasti dovolují snímání celých hmotnostních spekter dokonce i na velmi nízkých koncentračních hladinách, což dovoluje provádět

identifikaci/konfirmaci pomocí více iontů. K dalším výhodám lze uvést absenci spektrální asymetrie (nedochází ke změně poměrů iontů během akvizice jednotlivých hmotnostních spekter podél eluční zóny analytu), která je běžně pozorována u „scanovacích“ instrumentů (kvadrupól, iontová past). Použití speciálního softwaru pak dovoluje separovat částečně překryté chromatografické píky na základě vzrůstu/poklesu intenzity iontů v získaných hmotnostních spektrech (dekonvoluce). Rovněž možnost pracovat s rozšířeným hmotnostním rozsahem (až m/z 1500) lze shledat jako další výhodu.

Přesnost stanovení reziduí pesticidů značně ovlivňuje obsah nečistot ve vzorku. Jedná se především o netěkavé složky matrice, které se koextrahují ze vzorku spolu s cílovými analyty a mohou tak kontaminovat chromatografický systém. Pro odstranění rušivých komponent je nezbytné zařadit před vlastní instrumentální stanovení tzv. čistící krok. V praxi je při použití konvenčních technik (např. gelové permeační chromatografie, extrakce na pevnou fázi) téměř nemožné eliminovat veškeré koextrakty, aniž by nedošlo ke snížení výtěžnosti některých analytů.

Problém spojený s kontaminací systému netěkavými látkami do značné míry řeší nástřiková technika označovaná jako „*direct sample introduction*“ nebo jako „*difficult matrix introduction*“. Jejím principem je převedení primárního (nepřečištěného) extraktu do speciální mikrovialky, která je pak umístěna do injektoru při relativně nízké teplotě. Po odpaření většiny rozpouštědla se injektor velmi rychle vyhřeje a analyty jsou přeneseny na analytickou kolonu zatímco netěkavé matriční komponenty zůstávají v mikrovialce (jednorázové použití). Hlavní výhodou této techniky oproti jiným nástřikovým technikám velkého objemu je, že netěkavé matriční komponenty zůstávají v mikrovialce, a DMI technika tak vede k eliminaci potřeby časté údržby chromatografického systému a dochází tak k prodloužení životnosti analytické kolony. Z uvedeného rovněž vyplývá, že díky této technice je možno nástřikovat velké objemy vzorku bez přečištění, což snižuje cenu a zvyšuje výkonnost. Ve spojení s průletovým hmotnostním analyzátozem (TOF) je možno navíc zkrátit dobu analýzy, což vede k dalším ekonomickým úsporám.

Tato studie byla realizována v rámci výzkumného záměru 223300004 „Zlepšování kvality potravin a zajištění optimální výživy obyvatelstva“, část „Kontaminanty a další biologicky aktivní látky“.