

**UNIVERSITATEA „BABEȘ-BOLYAI” CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE CHIMIE ȘI INGINERIE CHIMICĂ**

Florina-Dorina Tușa (Covaciu)

**APLICAȚII ALE CROMATOGRAFIEI ȘI SPECTROMETRIEI DE MASĂ
ÎN CONTROLUL CALITĂȚII UNOR LEGUME ȘI FRUCTE
COMERCIALIZATE PE PIAȚA ROMÂNEASCĂ**

- Rezumatul tezei de doctorat -

**Conducător științific
Prof. Dr. Mircea Vlassa**

Cluj-Napoca

2017



**UNIVERSITATEA „BABEȘ-BOLYAI” CLUJ-NAPOCA
FACULTATEA DE CHIMIE ȘI INGINERIE CHIMICĂ**



Florina-Dorina Tușa (Covaciu)

**APLICAȚII ALE CROMATOGRAFIEI ȘI SPECTROMETRIEI DE MASĂ
ÎN CONTROLUL CALITĂȚII UNOR LEGUME ȘI FRUCTE
COMERCIALIZATE PE PIAȚA ROMÂNEASCĂ**

- Rezumatul tezei de doctorat -

**Conducător științific
Prof. Dr. Mircea Vlassa**

Cluj-Napoca

2017

Cuvinte cheie: pesticide, legume și fructe, raport izotopic, conținut în micro-macro elemente, chemometrie, QuEChERS, GC-ECD, GC-MS, ICP-MS, IRMS

Comisia de evaluare a tezei de doctorat:

Președinte:

Prof. dr. Vasile-Mircea Diudea

Universitatea Babeș-Bolyai, Facultatea de Chimie
și Inginerie Chimică, Cluj-Napoca

Conducător științific:

Prof. dr. Mircea Vlassa

Universitatea Babeș-Bolyai, Facultatea de Chimie
și Inginerie Chimică, Cluj-Napoca

Referenți:

Conf. dr. ing. Castelia Cristea

Universitatea Babeș-Bolyai, Facultatea de Chimie
și Inginerie Chimică, Cluj-Napoca

CS I dr. Zaharie Moldovan

Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru
Tehnologii Izotopice, Cluj-Napoca

Prof. dr. ing. Ionel Ciucanu

Universitatea de Vest, Facultatea de Chimie,
Biologie, Geografie, Timișoara

Introducere	1
Capitolul 1. Validarea metodei optimizate de extracție QuEChERS pentru determinarea reziduurilor de pesticide din matricele complexe prin cromatografie de gaze și spectrometrie de masă.....	4
1.1. Procedura de extracție.....	5
1.2. Validarea metodei optimizată de extracție QuEChERS a pesticidelor din morcovi.....	6
1.2.1. Domeniul de lucru și liniaritatea.....	6
1.2.2. Selectivitatea metodei.....	7
1.2.3. Limita de detecție și de cuantificare.....	8
1.2.4. Acuratețea și precizia.....	8
Capitolul 2. Aplicarea metodei de extracție QuEChERS optimizată pentru determinarea reziduurilor de pesticide din diverse categorii de legume.....	9
Capitolul 3. Analiza elementală, izotopică și de pesticide din fructe de pădure din zona Transilvaniei.....	12
Capitolul 4. Investigarea diferențelor ce apar în ceea ce privește conținutul de pesticide izotopic și elemental al fructelor de pădure sălbatice versus de cultură.....	14
4.1. Diferențierea fructelor de pădure sălbatice de cele de cultură utilizând testul ANOVA....	14
4.2. Diferențierea tipurilor de fructe de pădure în funcție de specie utilizând analiza discriminatorie liniară (LDA)	15
4.3. Diferențierea probelor de fructe de pădure între sălbatice și de cultură utilizând analiza discriminatorie liniară (LDA)	16
4.4. Determinarea reziduurilor de pesticide din probe de fructe de pădure de cultură.....	16

Capitolul 5. Testarea unor probe comerciale de căpșuni în vederea autentificării acestora în raport cu originea geografică.....	17
Capitolul 6. Evaluarea conținutului elemental, izotopic și de pesticide în tomate crescute în aer liber și în sere.....	20
6.1. Determinarea reziduurilor de pesticide din tomate crescute în seră și în aer liber.....	20
6.2. Determinarea de macroelemente din tomate crescute în seră și în aer liber.....	22
6.3. Determinarea de elemente esențiale și microelemente din tomate crescute în seră și în aer liber	23
6.4. Determinarea de metale toxice din tomate crescute în seră și în aer liber.....	23
6.5. Determinarea de minerale critice și pământuri rare din tomate crescute în seră și în aer liber.....	24
6.6. Diferențierea probelor de tomate între cele cultivate în aer liber și cele în seră utilizând chemometria.....	24
Concluzii	25
Lucrări publicate	28
Comunicări la conferințe internaționale	29
Bibliografie selectivă	31

În rezumatul tezei de doctorat se prezintă o parte din rezultatele cercetărilor experimentale proprii, concluziile generale și bibliografia selectivă.

Teza aduce contribuții originale relevante atât pentru domeniul determinărilor de reziduuri de pesticide în domeniul alimentar (prin creșterea semnificativă a sensibilității și a selectivității și în același timp scurtarea timpului de analiză), cât și în domeniul utilizării tehnicilor complementare cu scopul de evidențiere a diferențelor ce apar între fructe (sălbatică vs. cultură) și legume (aer liber vs. seră) și testarea probelor comerciale în vederea autentificării acestora în raport cu originea geografică.

În această teză este prezentată prima amprentare izotopică a fructelor de pădure din Transilvania și inițierea primei baze de date în care sunt furnizate datele obținute privind conținutul izotopic al fructelor de pădure transilvănene.

Teza de doctorat cu titlul *"Aplicații ale cromatografiei și spectrometriei de masă în controlul calității unor legume și fructe comercializate pe piața românească"*, este structurată în două părți: **partea I** - *Considerații teoretice* și **partea a II-a** de *Rezultate experimentale și contribuții personale*. Teza cuprinde: lista de abrevieri, obiective și contribuții originale, background, introducere, 11 capitole, 3 anexe, activitatea științifică și bibliografia.

Partea I de *"Considerații teoretice"* cuprinde patru capitole:

Capitolul 1 *"Pesticide"* reunește informații din literatura de specialitate referitoare la prezența pesticidelor în legume și fructe, clasificarea pesticidelor, normele privind limita maximă admisă pentru reziduurile de pesticide în legume și fructe și date statistice privind utilizarea pesticidelor la nivel național.

Capitolul 2 *"Metode de prelucrare a probelor pentru determinarea pesticidelor din legume și fructe"* prezintă un studiu de literatură privind metodele de extracție a reziduurilor de pesticide și metode de "clean-up" a extractelor obținute, utilizate pentru matricele complexe cum sunt fructele și legumele.

Capitolul 3 *"Metode analitice pentru detecția pesticidelor din matricele complexe"*, prezintă tehnicile frecvent utilizate în controlul alimentelor și a produselor alimentare privind conținutul de reziduuri de pesticide.

Capitolul 4 *”Controlul calității fructelor și legumelor pe baza măsurătorilor izotopice și elementale”* descrie tehnici analitice utilizate pentru autentificare, folosind spectrometria de masă pentru rapoarte izotopice combinată cu analiza elementală în determinarea originii geografice a legumelor și fructelor și corelarea profilul elemental și a compoziției izotopice a unui aliment cu originea sa geografică, folosind metode statistice.

Partea a II-a de *”Rezultate experimentale și Contribuții personale”* este structurată în șapte capitole după cum urmează:

Capitolul 5 *”Validarea metodei optimizate de extracție QuEChERS pentru determinarea reziduurilor de pesticide din matricele complexe prin cromatografie de gaze și spectrometrie de masă”* prezintă o metodă simplă, rapidă și necostisitoare pentru determinarea reziduurilor de pesticide în morcovi și potențiale alte matrice complexe. Evaluarea parametrilor de performanță (selectivitate, domeniul de lucru, liniaritate, limită de detecție și cuantificare, precizie și acuratețe) pentru validarea metodei optimizate de extracție QuEChERS a pesticidelor din morcovi folosind cromatografia și spectrometria de masă.

Capitolul 6 *”Aplicarea metodei de extracție QuEChERS optimizată pentru determinarea reziduurilor de pesticide din diverse categorii de legume”* prezintă rezultatele obținute privind nivelul reziduurilor de pesticide în legumele comercializate pe piața din Transilvania prin GC-ECD și GC-MS utilizând metoda de extracție QuEChERS optimizată și validată în capitolul 5.

Capitolul 7 *”Analiza elementală, izotopică și de pesticide din fructe de pădure din zona Transilvaniei”* furnizează date legate de amprentarea izotopică a fructelor de pădure din Transilvania.

Capitolul 8 *”Investigarea diferențelor ce apar în ceea ce privește conținutul de pesticide, izotopic și elemental al fructelor de pădure sălbatice versus de cultură”* prezintă corelațiile diferențelor ce care apar între fructele de pădure de cultură și sălbatice, crescute în diferite regiuni din Transilvania prin utilizarea metodelor chemometrice dintre determinările izotopice și elementale și conținutul de reziduuri de pesticide.

Capitolul 9 *”Testarea unor probe comerciale de căpșuni în vederea autentificării acestora în raport cu originea geografică”* prezintă un studiu privind conținutul de pesticide, minerale și metale toxice prezente în căpșunii proveniti atât din Transilvania cât și din alte țări, comercializați în supermarketurile și piețele de produse agricole din România.

Capitolul 10 *”Evaluarea conținutului, elemental, izotopic și de pesticide în tomate crescute în aer liber și în sere”* prezintă evaluarea tomatelor crescute în aer liber de cele de seră, folosind ca markeri de diferențiere: conținutul de pesticide, izotopic, micro și macro elemente, elemente esențiale, metale toxice și pământuri rare.

Capitolul 11 *”Concluzii și Recomandări”* prezintă în încheiere concluziile generale și recomandările și cuprind o sinteză a rezultatelor obținute.

Analiza fructelor și a legumelor pentru evaluarea reziduurilor de pesticide reprezintă o procedură importantă de control al calității, instituită pentru reducerea utilizării abuzive a pesticidelor și asigurării calității și siguranței alimentelor pentru consumul uman [1]. Sunt necesare metode analitice rapide, eficiente, precise și corecte, care să permită determinarea simultană a pesticidelor multi-clase și multi-reziduale. Este nevoie de selectivitate ridicată, sensibilitate, costuri reduse, număr mare de probe, cu cât mai puține manipulări obositoare și care să permită o cuantificare corectă a reziduurilor. Activitățile de control a legumelor și fructelor asigură protecția consumatorilor verificând că toate aceste produse destinate consumului uman sunt sigure și îndeplinesc cerințele de calitate [2], [3].

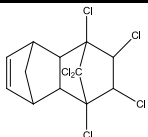
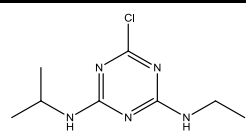
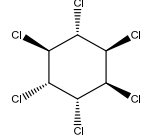
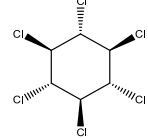
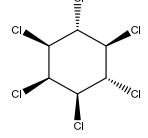
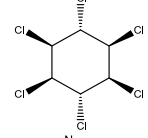
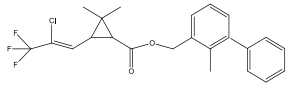
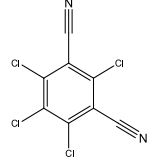
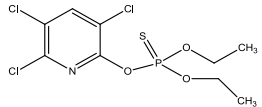
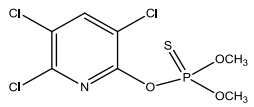
Determinarea reziduurilor de pesticide din legume și fructe este necesară pentru a ne asigura că expunerea oamenilor la contaminanți, în special prin aportul alimentar, nu depășește un nivel acceptabil pentru sănătate. În acest domeniu, sunt necesare metode analitice reproductibile pentru a permite separarea efectivă, identificarea selectivă și cuantificarea exactă a analiților la nivele scăzute de urme în legume și fructe. Prin urmare, metodele analitice robuste trebuie să fie validate pentru realizarea ambelor obiective: cercetare și monitorizare. Cea mai mare provocare analitică în siguranța alimentară este de a prezenta rezultate fiabile, cât mai repede posibil, fără a afecta metoda, cum ar fi: recuperare, precizie, sensibilitate, selectivitate și specificitate.

Validarea metodei optimizate de extracție QuEChERS pentru determinarea reziduurilor de pesticide din matricele complexe prin cromatografie de gaze și spectrometrie de masă

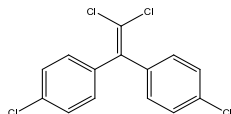
Dezvoltarea unor metodologii analitice de monitorizare a reziduurilor de pesticide din legume și fructe, este un subiect important al cercetării în evaluarea calității [4]. Procedura completă de determinare a reziduurilor de pesticide din aceste matrici este complexă și constă în mai multe etape. Este foarte important ca etapele procedurii de extracție și a analizei să fie validate pentru a se asigura conformitatea cu cerințele care definesc procedura și pentru a evalua utilitatea sa [5].

Capitolul de față are ca obiectiv optimizarea și validarea metodei de extracție QuEChERS și dezvoltarea unei metode de separare multireziduuale pentru detecția celor 30 de pesticide studiate (utilizate frecvente în stropirea legumelor și a fructelor). Compușii selectați pentru acest studiu sunt prezentați în tabelul 1-1.

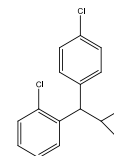
Tabelul 1-1. Structura chimică a pesticidelor studiate

Denumire Clasa Număr CAS	Structura chimică	Denumire Clasa Număr CAS	Structura chimică
Aldrin Insecticid 309-00-2		Atrazine Erbicid 1912-24-9	
α -Hexachlorbenzene (α -BHC) Insecticid 319-84-6		β -Hexachlorbenzene (β -BHC) Insecticid 319-85-7	
δ -Hexachlorbenzene (δ -BHC) Insecticid 319-86-8		γ -Hexachlorbenzene (γ -BHC) Insecticid 58-89-9	
Bifenthrin Insecticid piretroid 82657-04-3		Chlorothalonil Fungicid 1897-45-6	
Chlorpyrifos Insecticid 2921-88-2		Chlorpyrifos methyl Insecticid 5598-13-0	

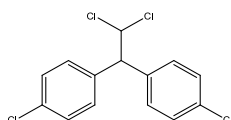
1,1-Dichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)-ethene (4,4'-DDE)
Insecticid
72-55-9



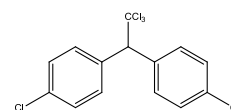
2,4'-Dichloro-diphenyl-dichloro-ethane (2,4'-DDD)
Insecticid
53-19-0



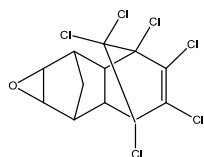
4,4'-Dichloro-diphenyl-dichloro-ethane (4,4'-DDD)
Insecticid
72-54-8



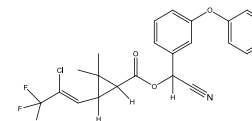
4,4'-Dichloro-diphenyl-trichloro-ethane (4,4'-DDT)
Insecticid
50-29-3



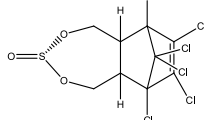
Dieldrin
Insecticid
60-57-1



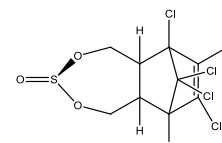
lambda-cyhalothrin
Insecticid
91465-08-6



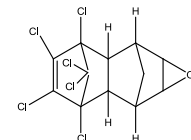
Endosulfan I
Insecticid
959-98-8



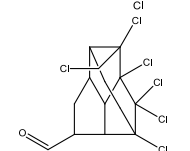
Endosulfan II
Insecticid
33213-65-9



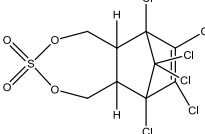
Endrin
Insecticid
72-20-8



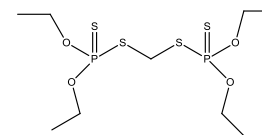
Endrin aldehyde
Insecticid
7421-93-4



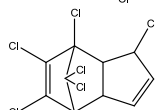
Endosulfan sulfate
Insecticid
1031-07-8



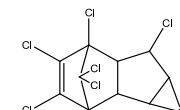
Ethion
Insecticid
563-12-2



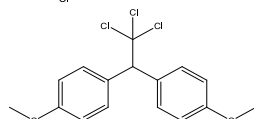
Heptachlor
Insecticid
76-44-8



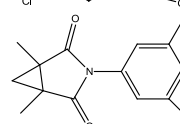
Heptachlorepoxyde
Insecticid
145213-12-3



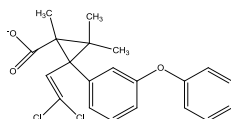
Methoxychlor
Insecticid
72-43-5



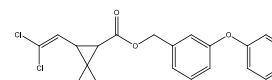
Procymidone
Fungicid
32809-16-8



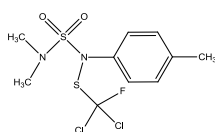
cis-Permethrin
Insecticid
61949-76-6



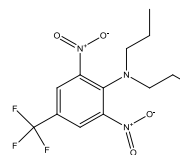
trans-Permethrin
Insecticid
54774-47-9



Tolyfluanid
731-27-1



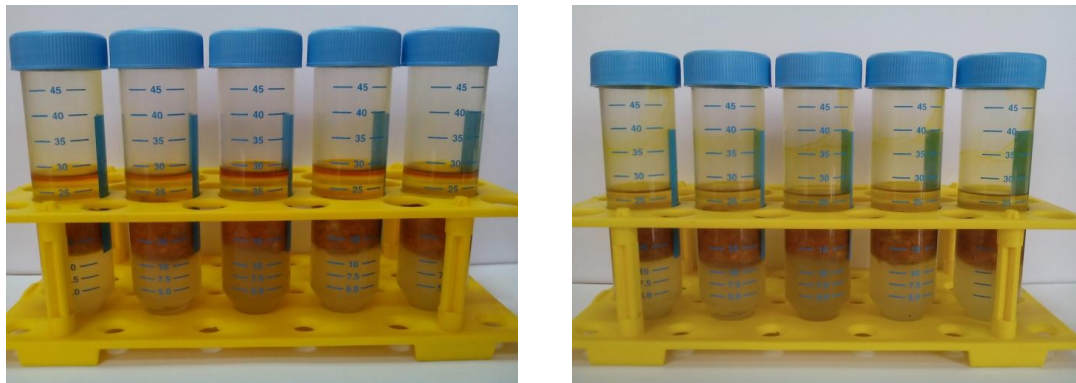
Trifluralin
Erbicid
1582-09-8



1.1. Procedura de extracție

Principalul dezavantaj al metodei de extracție QuEChERS sunt obținerea de extracte relativ „murdare“. Pentru îmbunătățirea rezultatului în ultimul deceniu numeroase modificări și variații ale metodei inițiale au fost raportate în literatura de specialitate [6]. Ținând seama că etapa de „clean-up” este una dintre cele mai importante etape în eliminarea interferențelor nedorite

din extracte înainte de efectuarea analizei, am optimizat metoda de extracție QuEChERS prin adăugarea de n-hexan în prima etapă a extracției (Figura 1-1).



a).

b).

Figura 1-1. Etapa de separare după procesul de extracție

a). înainte de îndepărtarea n-hexan-ului b). după îndepărtarea n-hexan-ului

1.2. Validarea metodei optimizată de extracție QuEChERS a pesticidelor din morcovi

Analiza a fost realizată în mai puțin de 30 de minute, pe probe de morcovi utilizând un cromatograf de gaze echipat cu doi detectori: ECD și FID. Identificarea compușilor a fost confirmată prin GC-MS. Pentru a confirma funcționalitatea metodei, au fost evaluați următorii parametri de performanță: domeniul de lucru și liniaritatea, selectivitatea, limita de detecție și de cuantificare, precizia și acuratețea.

1.2.1. Domeniul de lucru și liniaritatea

S-a realizat o curbă de etalonare formată din 5 puncte. S-au preparat 5 soluții de lucru care conțin cele 30 de pesticide, de concentrații: 10, 25, 50, 100 și 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Dreptele de etalonare obținute se pot observa în figura 1-2.

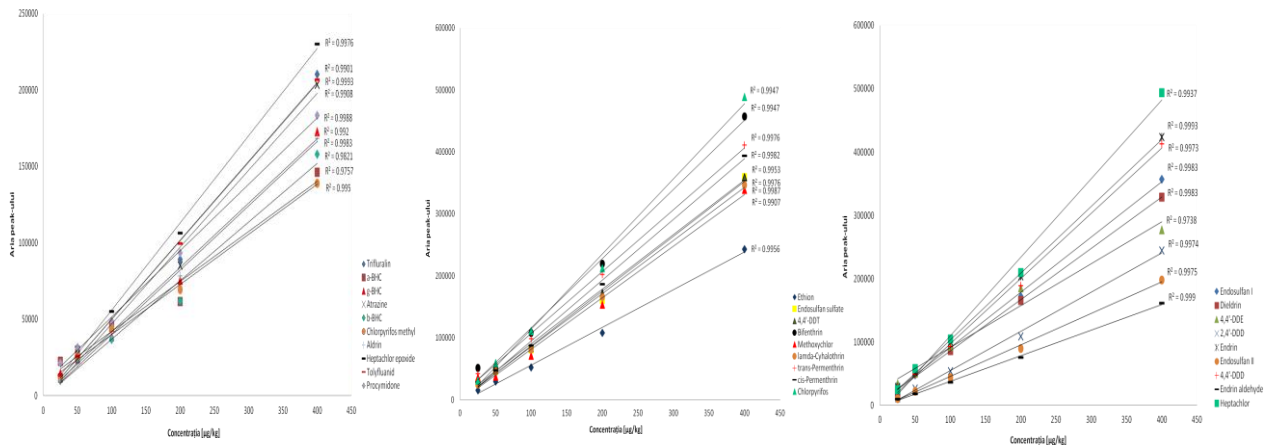


Figura 1-2. Curbele de calibrare pentru compușii studiați

1.2.2. Selectivitatea metodei

Figura 1-3 prezintă cromatograma GC-ECD tipică a amestecului standard (400 ng/ml din fiecare compus) în intervalul 11-23 min. Separarea tuturor pesticidelor a fost în general bună, prezentând peak-uri ascuțite, cu excepția a 6 pesticide care nu sunt separate.

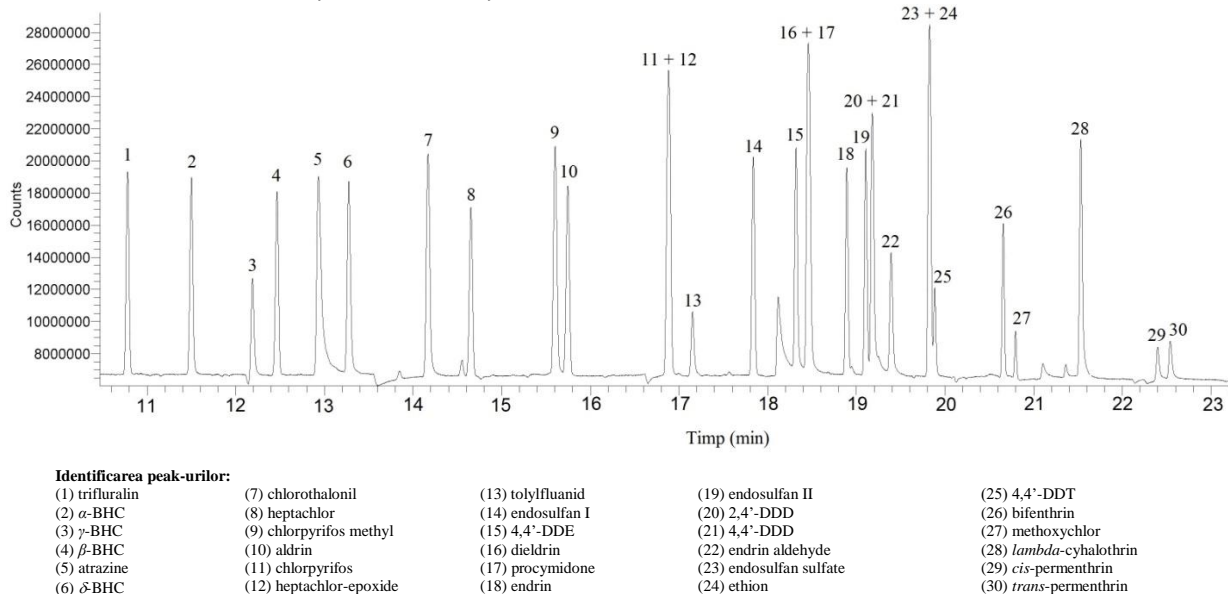


Figura 1-3. Cromatograma GC-ECD a soluției standard din cele 30 de pesticide (400 ng/ml)

Răspunsul pentru toate pesticidele a fost liniar în intervalul de concentrație (10-150 $\mu\text{g}/\text{kg}$), cu determinarea unui coeficient de corelație (R^2) mai mare decât 0,9920 pe baza măsurării ariilor peak-urilor de analiți utilizând detectorul cu captură de electroni, cu excepția a doi compuși: 4,4'-DDE și α -BHC, cu un coeficient de 0,9738 și respectiv 0,9757. Figura 1-4, prezintă cromatograma GC-ECD a unui extract dintr-o probă de morcov fortificată la concentrația de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ din pesticidele studiate.

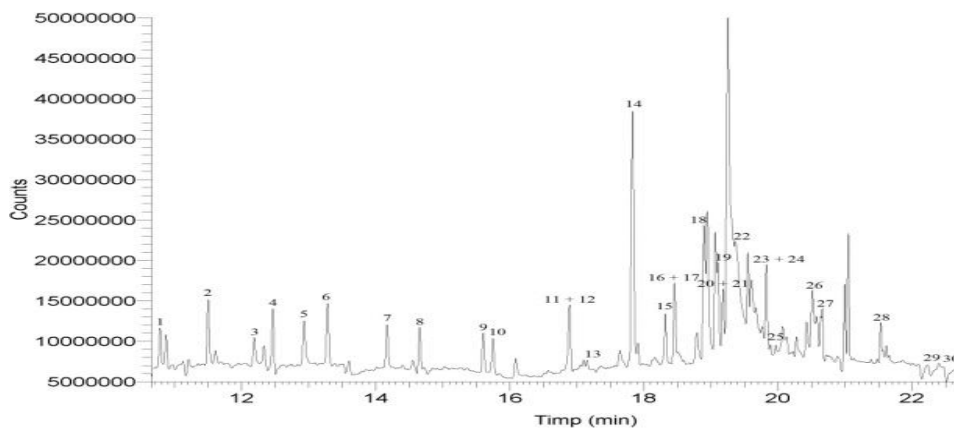


Figura 1-4. Cromatograma GC-ECD a extractului dintr-o probă de morcovi fortificată la concentrația de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ din cele 30 de pesticide

1.2.3. Limita de detecție și de cuantificare

Limitele de detecție obținute prin metoda de extracție optimizată pentru pesticidele studiate a fost de la: 0.34 până la 3.08 $\mu\text{g/kg}$ pentru GC-FID, 0.23-1.68 $\mu\text{g/kg}$ pentru sistemul cuplat GC-MS și de la 0.18 până la 0.92 $\mu\text{g/kg}$ pentru GC-ECD, cu excepția cis și trans-permenthrin-ului pentru care a fost de 2.71 și respectiv de 2.89 $\mu\text{g/kg}$ (Tabelul 1-2).

1.2.4. Acuratețea și precizia

Rezultatele obținute pentru randamentele de recuperare pentru cele 30 de pesticide sunt în intervalul 22.21-98.35 % (tabelul 1-2). Cele trei determinări repetate de randamente de recuperare indica o reproductibilitate bună pentru aceste pesticide (deviațiile standard relative (RSD) fiind pentru toți compușii <11 , cu excepția trifluralinului și β -BHC, pentru care a fost în jur de 12.5. Peak-urile care interferează sau se suprapun cu pesticidele studiate pot să ducă la randamente de recuperare joase [7].

Tabelul 1-2. Parametrii de validare ai metodei optimizate de extracție și limită maximă admisă de reziduuri de pesticide în morcovi

Pesticide	GC-ECD T_R	Linearitate (R^2)	Factori de Recuperare GC-ECD (%)	RSD (n=3) GC-ECD (%)	LOD GC-FID ($\mu\text{g/kg}$)	LOD GC-MS ($\mu\text{g/kg}$)	LOD GC-ECD ($\mu\text{g/kg}$)	MRL ($\mu\text{g/kg}$)
Trifluralin	10.54	0.9901	64.35	12.20	0.71	0.52	0.23	100
α -BHC	11.25	0.9757	85.08	3.90	1.66	1.23	0.35	10
γ -BHC	11.96	0.9920	52.79	4.40	0.93	1.28	0.92	10
β -BHC	12.20	0.9821	72.57	12.20	2.10	1.14	0.39	10
Atrazine	12.22	0.9908	87.79	8.70	2.85	1.28	0.33	100
δ -BHC	13.04	0.9992	98.35	10.03	3.08	1.68	0.48	10
Chlorothalonil	13.89	0.9980	43.66	4.11	1.29	0.91	0.27	50
Heptachlor	14.35	0.9937	51.31	1.10	0.62	0.94	0.35	10
Chlorpyrifos methyl	15.31	0.9950	82.02	12.50	1.29	1.52	0.25	50
Aldrin	15.43	0.9983	46.87	3.80	2.85	0.86	0.31	20
Heptachlorepoxyde	16.6	0.9976	58.19	6.80	0.85	0.64	0.22	20
Chlorpyrifos	16.62	0.9947	62.75	3.30	0.45	1.00	0.20	50
Tolylfluamid	16.89	0.9993	52.14	4.60	0.85	0.82	0.62	20
Endosulfan I	17.58	0.9983	63.69	1.30	2.00	0.66	0.29	50
4,4'-DDE	18.08	0.9738	37.04	1.20	1.14	0.89	0.27	50
Dieldrin	18.21	0.9983	33.36	8.70	0.62	0.66	0.19	10
Procymidone	18.23	0.9988	42.71	10.80	0.70	0.66	0.18	20
Endrin	18.66	0.9993	30.41	1.20	2.22	0.23	0.30	10
Endosulfan II	18.89	0.9975	85.79	1.50	2.86	0.97	0.27	50
4,4'-DDD	18.96	0.9973	22.21	2.90	0.62	0.91	0.25	50
2,4'-DDD	18.98	0.9974	23.17	3.40	0.57	0.68	0.18	50
Endrin aldehyde	19.19	0.9990	41.47	1.30	0.62	1.00	0.39	10
Endosulfan sulfate	19.61	0.9953	31.66	2.80	1.67	0.40	0.31	50
Ethion	19.63	0.9956	97.40	3.10	1.43	0.40	0.57	50
4,4'-DDT	19.69	0.9976	32.05	4.64	0.47	1.10	0.52	50
Bifenthrin	20.47	0.9947	43.83	1.60	0.34	0.60	0.51	50
Metoxychlor	20.62	0.9907	59.19	2.10	3.07	1.39	0.89	10
λ -Cyhalothrin	21.33	0.9987	23.17	4.30	0.37	1.33	0.66	20
trans-Permenthrin	22.16	0.9976	76.78	1.80	1.00	1.10	2.22	50
cis-Permenthrin	22.3	0.9982	67.89	4.20	1.33	1.33	1.84	50

Aplicarea metodei de extracție QuEChERS optimizată pentru determinarea reziduurilor de pesticide din diverse categorii de legume

În acest capitol s-a evaluat nivelul reziduurilor de pesticide în legumele comercializate pe piața din Transilvania de diferite proveniențe. În acest scop au fost investigate un total de 50 de probe de legume (morcov, cartof, pătrunjel, păstârnac, fasole verde, dovlecel, vânăță, varză, salată, castravete, conopidă, ardei gras și ardei kapia) utilizând metoda QuEChERS și GC-ECD pentru separarea, detecția și cuantificarea pesticidelor, metodă descrisă în capitolul 1.

Rezultatele au arătat că mai mult de jumătate dintre probe (68%) conțin pesticide, iar 10 % conțin reziduuri de pesticide peste limitele maxime de reziduuri. Procentul de probe de legume fără reziduuri detectabile, cu reziduuri de sub și peste MRL sunt prezentate în figura 2-1.

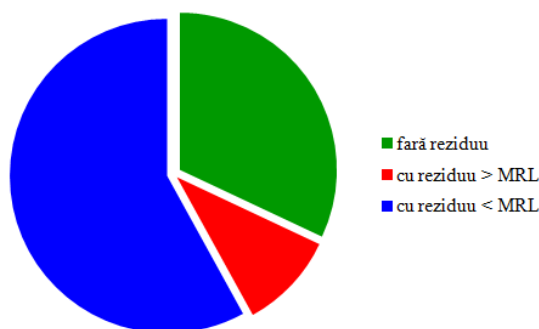


Figura 2-1. Procentul de probe de legume fără reziduuri, cu reziduu sub și peste MRL

Dintre probele cu reziduuri 85.3 % (29 probe) conțin reziduuri de pesticide sub MRL, în timp ce 14.7 % (5 probe) prezintă valori mai mari decât MRL. Distribuția reziduurilor de pesticide în probele de legume analizate este prezentată în figura 2-2. Au fost detectate în legumele investigate, 21 de pesticide (dintre care 18 insecticide, 2 fungicide și un erbicid) din cele 30 de pesticide vizate.

În ceea ce privește pesticidele detectate în morcovi, 6 pesticide au fost detectate în 9 probe și toate concentrațiile au fost sub MRL stabilite pentru morcovi. Reziduuri de chlorpyrifos methyl, au fost detectate în 2 două probe (1.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ în proba din Polonia și 3.44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ în proba din Italia). Într-o probă de morcov din Spania s-a observat prezența 4,4'-DDE în concentrație de 1.97 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Trei probe (două din Polonia și una din Italia) au prezentat endosulfan sulfat, în două probe din Portugalia și România, s-a detectat aldrin, și în două probe din Italia s-a detectat

bifenthrin. Pentru methoxychlor, cinci probe au prezentat reziduuri sub MRL. Concentrațiile determinate au fost de 0.91 $\mu\text{g}/\text{kg}$ în proba din Anglia, 1.85 și 1.49 $\mu\text{g}/\text{kg}$ în probele din Polonia, 1.09 $\mu\text{g}/\text{kg}$ în proba din Spania și 1.43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ în proba din România [7].

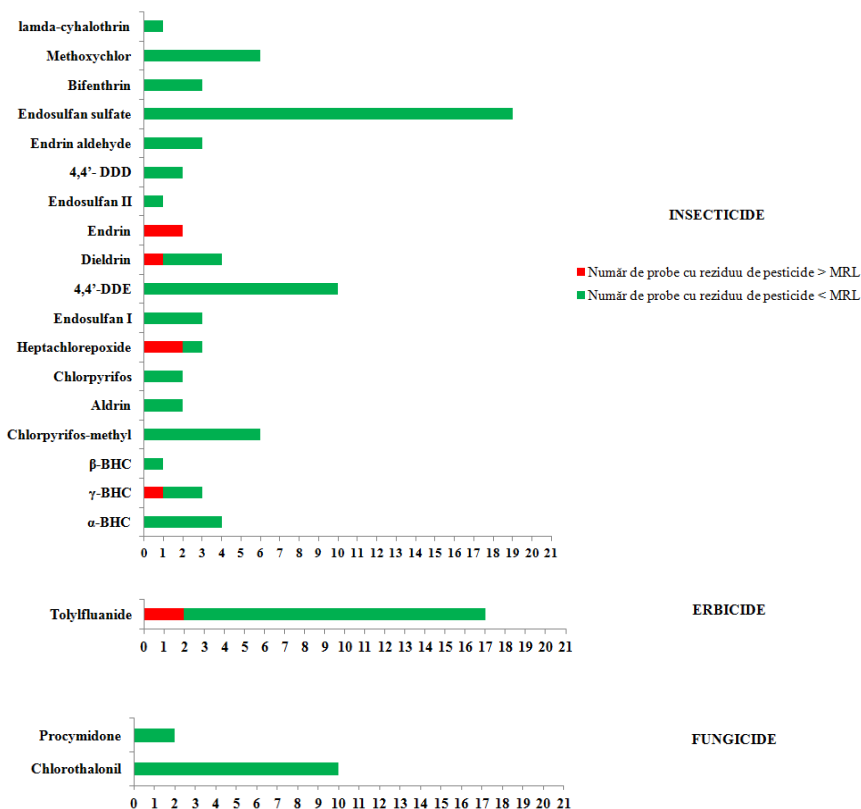


Figura 2-2. Frecvența prezenței pesticidelor detectate în legume

În toate probele de cartofi, dovlecel, fasole verde, vinete, varză albă, roșii, castraveți, salată verde, conopidă, ardei gras și kapia, pătrunjel și păstârnac rădăcină s-au găsit reziduuri de pesticide. În cartofi s-au detectat în total 9 pesticide, toate concentrațiile fiind sub MRL, iar cei mai frecvenți compuși detectați sunt: chlorothalonil, tolyfluanide și endosulfan sulfat. Reziduu de pesticid determinat în concentrația cea mai mare a fost însă cea de tolyfluanide în proba C₂. Din rezultatele obținute se pot observa concentrații ridicate de tolyfluanide în proba de castravete și salata verde analizată, de 8.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ și respectiv 4.08 $\mu\text{g}/\text{kg}$. În cele 3 probe de tomate analizate cea mai mare cantitate de tolyfluanide a fost determinată în proba R₂ din Spania (18.09 $\mu\text{g}/\text{kg}$) și R₃ din România (12.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Toate aceste concentrații fiind sub MRL (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Însă cea mai mare cantitate de tolyfluanide s-a determinat în proba de varză albă V_{a2} (185.45 $\mu\text{g}/\text{kg}$) și de vinete V₁ (28.48 $\mu\text{g}/\text{kg}$), ambele fiind peste MRL. Pesticidele detectate și care sunt în cantități peste MRL, fac parte din pesticidele de veche generație și din clasa

pesticidelor persistente: γ -BHC, a fost detectat puțin peste MRL în proba de ardei kapia roșu A_{k2} (10.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$), heptachlor epoxide în două probe una de pătrunjel și una de păstârnac rădăcină (93.21 $\mu\text{g}/\text{kg}$ și 31.76 $\mu\text{g}/\text{kg}$), dieldrin în proba de pătrunjel rădăcina (37.74 $\mu\text{g}/\text{kg}$) și endrin în probele de pătrunjel și păstârnac rădăcină (26.76 $\mu\text{g}/\text{kg}$ și 12.45 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

Printre legumele testate au fost observate: 8 probe conținând un singur pesticid (16 %) și 26 de probe cu mai multe pesticide (52 %, de la două la opt pesticide) (figura 2-3). Reziduurile cel mai frecvent detectate au fost o combinație de două pesticide (20 %). Și reziduuri multiple de 3, 4 și 5 reziduuri de pesticide, au fost găsite tot în câte 4 probe, în total 12 probe (24 %). Proba cu cele mai multe pesticide detectate (8), a fost proba de pătrunjel rădăcină. Toate pesticidele prezente în această probă sunt insecticide, iar 3 dintre ele: heptachlor epoxide (93.21 $\mu\text{g}/\text{kg}$), dieldrin (37.74 $\mu\text{g}/\text{kg}$) și endrin (26.76 $\mu\text{g}/\text{kg}$) sunt peste MRL. Aceste pesticide multireziduu, prezintă un risc mai mare pentru sănătatea consumatorilor.

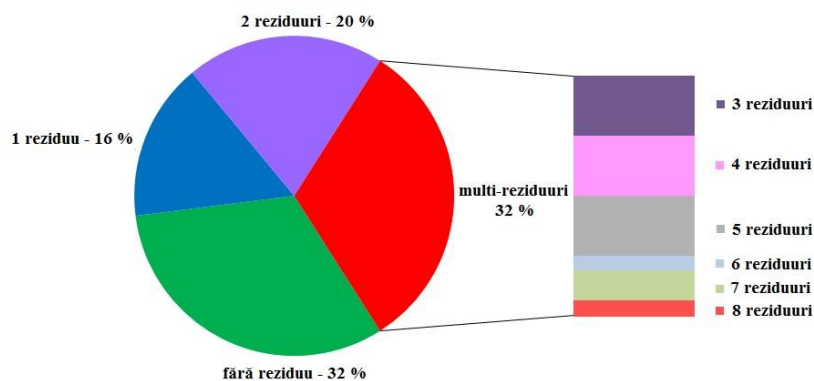


Figura 2-3. Ponderea pesticidelor multireziduale în probe

Analiza elementală, izotopică și de pesticide din fructe de pădure din zona Transilvaniei

Un potențial valorificat în Transilvania îl constituie colectarea fructelor de pădure. Valoarea comercială a acestora este cu atât mai mare cu cât aceste fructe provin din locuri izolate sau ferite de poluare, de aceea dezvoltarea unor metode analitice capabile să diferențieze zona în care acestea au crescut este deosebit de importantă. Cea mai bună metodă de autentificare a produselor în raport cu originea geografică, recunoscută și aplicată cu succes la nivelul UE este așa numita amprentare izotopică.

Este de știut faptul că fiecare plantă păstrează în „memoria” sa amprenta locului în care aceasta a crescut și s-a dezvoltat, fapt ce se reflectă în rapoartele izotopice specifice ale „bioelementelor” ($^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ și $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) ce intra în compoziția plantei respective. Condițiile geografice (altitudinea, distanța față de mare sau ocean) și meteorologice, alături de alți factori cum ar fi: anul de producție, apa folosită pentru irigații, tipul de sol, sunt principalele elemente care influențează valorile rapoartelor izotopice ale plantelor. Determinarea rapoartelor izotopice: $^2\text{H}/^1\text{H}$ și $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ poate oferi informații legate de originea geografică a produselor alimentare (fructe de pădure) în timp ce determinarea raportului izotopic $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dă informații despre originea botanică a produselor și mai puțin despre cea geografică [8].

Efectul contaminării cu metale grele a fructelor de pădure nu poate fi subestimat deoarece aceste alimente sunt componente importante ale dietei umane. Contaminarea cu metale grele a alimentelor este un alt aspect important în asigurarea calității alimentelor [9], [10].

În acest capitol sunt descrise pregătirea și prepararea probelor și metodele analitice utilizate pentru determinarea compoziției: elementale, a rapoartelor izotopice și a reziduurilor de pesticide. Este prezentată prima amprentare izotopică a fructelor de pădure din zona Transilvaniei. Noutatea acestui studiu constă în combinarea mai multor metode analitice complementare în ceea ce privește calitatea și siguranța alimentelor, cu referire în special la fructele de pădure.

Valorile izotopice medii, a fructelor de pădure, pentru a vedea variațiile izotopice ce apar în mod natural între acestea, sunt prezentate în Tabelul 3-1.

Tabel 3-1. Variația conținutului izotopic al fructelor de pădure

PROBA	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\delta^2\text{H}$ (‰)		$\delta^{18}\text{O}$ (‰)	
	min	max	min	max	min	max
Zmeură	-27.9	-22.3	-56.6	-25.0	-4.8	2.9
Mure	-31.1	-23.4	-36.2	-16.8	-2.3	3.5
Merișoare	-29.3	-26.3	-37.2	-19.5	-3.2	1.5
Afine	-32.0	-25.3	-34.4	-17.0	-1.2	8.9
Cătină	-29.1	-25.8	-38.2	-24.1	-3.5	4.3
Măcieșe	-27.9	-26.4	-59.5	-44.1	-11.3	-2.8
Păducel	-29.5	-25.4	-56.2	26.9	-0.9	43.8
Porumbe	-28.5	-27.4	-68.0	-20.9	-6.8	7.7
Alune de pădure	-30.0	-28.7	-85.1	-43.2	-21	-8.6
Căpșuni	-27.2	-24.6	-41.1	-1.5	-4.3	12.5

Investigarea diferențelor ce apar în ceea ce privește conținutul de pesticide izotopic și elemental al fructelor de pădure sălbatice versus de cultură

Considerând diferențele genetice dintre fructele sălbatice și cele de cultură se poate observa o potențială variabilitate a compoziției elementale. Conținutul mineral depinde de mulți factori: varietate, maturitate, condițiile solului, factori de mediu, timpul și metodele de recoltare și practicile agricole [11], [12].

În acest capitol pentru a putea face diferența între fructe de pădure de cultură și fructe de pădure sălbatice, s-a determinat compoziția izotopică a carbonului, oxigenului și hidrogenului, iar pentru măsurători complementare de conținut elemental, s-a utilizat tehnica ICP-MS. Corelațiile dintre determinările izotopice și elementale s-au făcut utilizând metode chemometrice (testul ANOVA și analiza discriminatorie liniară (LDA)).

Valorile izotopice a fructelor de cultură sunt mai mari decât cele ale fructelor sălbatice (ex. valorile izotopice medii $\delta^{13}\text{C}$: zmeură de cultură (- 25.4 ‰), zmeură salbatică (- 26.3 ‰), mure de cultură (- 25.5 ‰), mure salbatice (-28.6 ‰), afine de cultură (- 27.1 ‰), afine salbatice (- 29.0 ‰)). Acest fapt poate fi explicat prin diferența de altitudine, fructele salbatice crescând la o altitudine mai mare decât cele de cultură. Precipitațiile care cad la altitudini ridicate au o compoziție izotopică ($\delta^{18}\text{O}$, $\delta^2\text{H}$) mai scăzută comparativ cu cele de la altitudini mai mici (ex: zmeura de cultură din Campia-Turzii are $\delta^{18}\text{O} = - 1.3$ ‰ și $\delta^2\text{H} = - 32.1$ ‰, iar zmeura de cultură din Băișoara are $\delta^{18}\text{O} = - 3.4$ ‰ și $\delta^2\text{H} = - 43.6$ ‰). De asemenea, valoarea $\delta^{13}\text{C}$ este mai negativă pentru plantele/fructele care cresc în zone caracterizate de temperaturi mai scăzute și umiditate mai pronunțată (ex. altitudini înalte) [13].

4.1. Diferențierea fructelor de pădure sălbatice de cele de cultură utilizând testul ANOVA

O primă clasificare propusă s-a făcut folosind următorii markeri discriminanți: $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^2\text{H}$, $\delta^{18}\text{O}$, Na, Mg, P, Ca, Mn, Co, Ni, Zn, Rb, Sr și Ba. S-a realizat analiza „one-way” a variației (ANOVA) pentru a identifica diferențele semnificative în conținut izotopic și elemental din diferite specii de fructe de pădure.

S-au găsit diferențe semnificative ($p < 0.05$) în conținutul izotopic și de macro/micro elemente din diferitele specii de fructe de pădure. Diferențierea fructelor investigate pe baza

conținutul izotopic poate fi explicată prin faptul că gradul de îmbogațire izotopică depinde de asemenea și de tipul de fruct, datorită particularităților fiecărei plante, astfel obținându-se diferențe în profilul izotopic și elemental al fructelor care provin din aceeași zonă geografică.

Din rândul macro-mineralelor studiate rezultatele ANOVA au indicat diferențe semnificative în conținutul de Na, Mg, P și Ca. Conținutul diferit de minerale poate fi datorat capacității diferențiale a speciilor de fructe de pădure în absorbția ionilor din sol și/sau a capacității specifice de distribuire în întreaga plantă [13]. Luând în considerare rezultatele conținutului de macro-nutrienți în probele de fructe de pădure, putem observa cea mai mare concentrație de Na și cel mai mic conținut de Ca în probele de cătină comparativ cu cele de zmeură, mure și merișoare. Probele de zmeură și mure conțin un nivel mai mare de Mg și P comparativ cu cele de merișoare și afine în timp ce cătina a avut nivelul de P mai mare decât afinele.

Din rândul micro-elementelor studiate, rezultatele ANOVA au indicat diferențe semnificative în conținutul de Mn, Co, Zn, Ni, Ba, Rb și Sr. Merișoarele au prezentat cea mai mare concentrație de Mn comparativ cu celelalte fructe de pădure studiate. Privind conținutul de Zn și Ni a fost înregistrat un nivel mai ridicat în probele de zmeură și cătină comparativ cu merișoarele și afinele. În studiul nostru, concentrația de Ni determinată a fost în intervalul acceptabil. Analiza efectuată a determinat că murele sunt o sursă bună de Co comparativ cu cătina și cu afinele. Testul ANOVA a indicat valori mai mari de Ba în merișoare și afine comparativ cu celelalte fructe de pădure. Concentrațiile de Rb găsite în zmeură au fost statistic mai reduse decât cele din merișoare, în timp ce conținutul de Sr în mure au fost statistic mai mari decât celelalte fructe de pădure studiate. Aceste diferențe se pot datora caracteristicilor geochemice și geopedologice ale solului unde aceste fructele au crescut [13].

4.2. Diferențierea tipurilor de fructe de pădure în funcție de specie utilizând analiza discriminatorie liniară (LDA)

Pentru a obține o clasificare mai cuprinzătoare a probelor de fructe în funcție de tipul de fructe de pădure s-a utilizat metoda chemometrică LDA. În acest caz cei mai puternici markeri de discriminare ($p < 0.05$) au fost: Ba, Na, P, Ca, și Zn. Primele două funcții discriminant DF (DF1 și DF2) furnizează separarea probelor (Figura 4-1). Rezultatele clasificării au arătat că 87.5 % din cazurile originale au fost corect clasificate și procentajul procedurii de validare încrucișate a fost de 72.5 %.

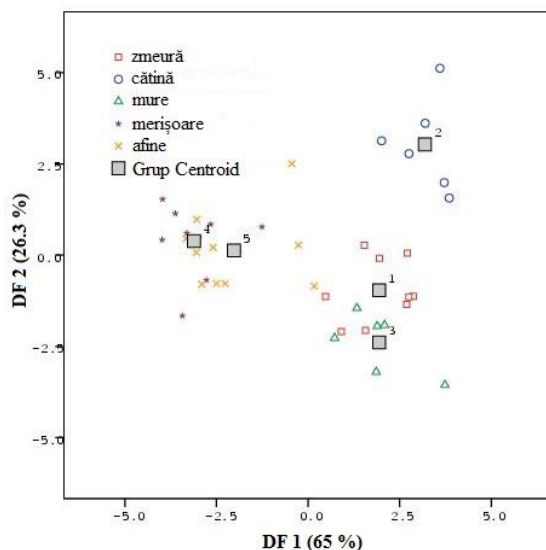


Figura 4-1. Reprezentarea grafică a fructelor de pădure după LDA

4.3. Diferențierea probelor de fructe de pădure între sălbatice și de cultură utilizând analiza discriminatorie liniară (LDA)

S-a efectuat un test LDA pentru a diferenția afinele crescute sălbatic de cele de cultură. Rezultatele obținute au arătat o separare totală a celor două categorii și probele testate sunt 100 % corect clasificate, atât prin clasificare inițială cât și prin validarea încrucișată. Funcția discriminant obținută explică 100% obținerea variației totale și a valorii Wilks lambda de 0.002. Această funcție a avut ca și variabile următorii parametrii: Rb, Pb, Co, $\delta^{18}\text{O}$, Na, Mg.

Funcția semnificativă obținută ($p=0.01$, Wilks lambda 0.553) a fost testată și același procentaj s-a obținut atât inițial cât și prin validarea încrucișată. S-a efectuat un test LDA pentru a diferenția afinele sălbatice de cele de cultură. Rezultatele obținute au arătat o separare totală a celor două categorii cu o clasificare a probelor testate de o corectitudine de 100% atât inițial cât și a celei prin validare încrucișată. Valoarea Wilks lambda obținută a fost de 0.001. Această funcție a avut ca și variabile următorii parametrii: Ag, As, Mg, $\delta^2\text{H}$, și Cd.

4.4. Determinarea reziduurilor de pesticide din probe de fructe de pădure de cultură

Au fost identificate și confirmate 2 pesticide (α -BHC și chlorpyrifos methyl) în fructele de pădure de cultură analizate din zona Transilvaniei. Concentrația de α -BHC determinată în mure este de 0.28 $\mu\text{g}/\text{kg}$, și este sub MRL prevăzută pentru fructele de pădure. Într-o singură probă de zmeură s-a observat prezența de chlorpyrifos methyl, concentrația (2.96 $\mu\text{g}/\text{kg}$) fiind și în acest caz sub MRL.

Testarea unor probe comerciale de căpșuni în vederea autentificării acestora în raport cu originea geografică

În acest capitol a fost evaluat conținutul de pesticide, minerale și metale toxice prezente în căpșunii vânduți pe piața din România. Corelația Pearson și analiza componentelor principale (PCA) au fost utilizate pentru a determina dacă există asemănări din punct de vedere al conținutului de minerale și de metale în probele de căpșuni. În afară de aceasta, pentru a sublinia diferențele privind originea geografică a căpșunilor studiiți, au fost determinate rapoartele de izotopi stabili ($^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$).

Figura 5-1 prezintă valorile izotopice $\delta^{18}\text{O}$ și $\delta^2\text{H}$ corespunzătoare apei extrase din probele investigate. Se poate observa că cele mai scăzute valori izotopice au fost obținute pentru căpșunii din Germania în timp ce cele mai mari valori s-au obținut pentru cele două probe din Italia. Aceste diferențe au fost de așteptat și sunt explicate de diferențele climatice și meteorologice care există între aceste două țări, în ceea ce privește amprenta izotopică, temperatura medie și precipitațiile. Diferențe importante în ceea ce privește $\delta^{18}\text{O}$ sunt de asemenea observate între probele din Italia, una dintre ele având o valoare mai mica, în jur de -1.7 ‰. Diferențele care apar între probele italiene ar putea să fie din cauza provenienței fructelor, diferitelor condiții climatice și meteorologice, sau datorită utilizării apelor de irigare care au compoziții izotopice diferite. Pentru probele de fructe provenind din Grecia, rezultatele obținute au fost foarte apropiate, ceea ce indică faptul că cel mai probabil, căpșunii au fost crescuți în aceleași condiții climatice și meteorologice. Probele de căpșuni provenite din: România, Belgia, Republica Cehă și Turcia prezintă valorile izotopice $\delta^{18}\text{O}$ și $\delta^2\text{H}$ între cele din Germania și Italia, într-o corelație directă cu condițiile lor climatice [13]. Variația valorii izotopice $\delta^{13}\text{C}$ a fost de aproximativ 2.6 ‰, intervalul de variație fiind între -24.3 ‰ (proba S₉) și -27.2 ‰ (proba S₁₀). Aceste diferențe mici indică faptul că $\delta^{13}\text{C}$ nu este un bun indicator pentru originea geografică ci el da mai degrabă informații legate de speciile de plante.

Rezultatele au arătat: căpșunii sunt bogăți în minerale esențiale, cum ar fi: K, P, Ca și respectiv Mg, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Ca, Cd și Pb au fost unele dintre celelalte oligoelemente detectate. Pb și Cd au fost găsite în cantități mici. Valorile înregistrate pentru concentrațiile de Fe și Ni au fost mai mici decât 133.1 mg/kg și respectiv 8.7 mg/kg.

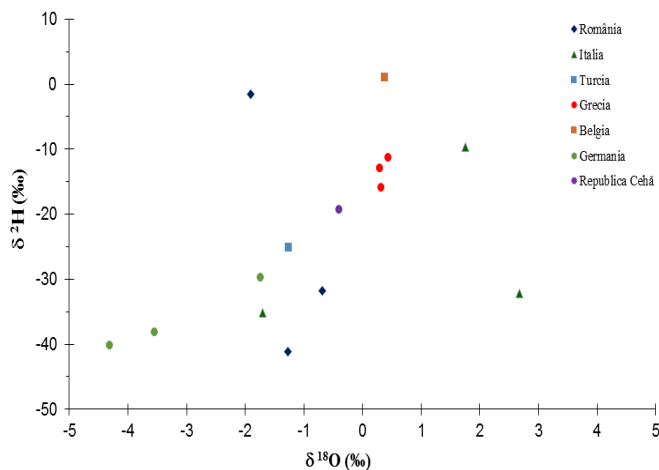


Figura 5-1. Corelarea valorilor izotopice $\delta^{18}\text{O}$ și $\delta^2\text{H}$ din apa extrasă din probele de căpșuni

Dintre toate macro-mineralele găsite în probele analizate, K a fost cel mai abundent. Acesta a fost prezent în cantitatea cea mai mare în fructele de căpșuni din Belgia și într-o probă din România. Căpșunii din Italia și Belgia au avut un conținut mai ridicat de Ca, comparativ cu fructele din Grecia, care au avut o valoare medie de 1124.7 mg/kg. Rezultatele obținute pentru concentrațiile de P au indicat faptul că probele produse în Grecia și Belgia au valori medii mai mari, comparativ cu probele din alte țări. În cazul Mg, valorile medii în probele de căpșuni din Germania și Republica Cehă sunt apropiate, iar proba din Turcia se caracterizează prin cea mai scăzută concentrație din acest element. Conținutul în Pb și Cd în căpșunii analizați a fost relativ scăzut și nu a depășit nivelul maxim admis pentru aceste elemente în fructe, cu excepția a două probe din Belgia și România și respectiv o probă din Grecia. Se poate observa că toate concentrațiile de Zn din căpșuni depășesc nivelele admise. În afară de acest lucru, 7 din 17 probe de căpșuni au un conținut ridicat de Cu și nivelul maxim admis de asemenea depășit.

Corelații semnificative între elementele din cele 17 probe de căpșuni, au fost evidențiate utilizând corelația Pearson. Corelațiile obținute au fost după cum urmează: Mg cu P (0.570), K (0.866), Cu (0.553), Zn (0.592) și Cd (0.640), P a fost corelat cu K (0.574) și Zn (0.788), K cu Zn (0.610) și Cd (0.591), Cr cu Fe (0.824), Ni (0.693) și As (0.500), Fe cu Ni (0.784), Cu cu Cd (0.665) și Pb (0.822) și în cele din urma, Cd cu Pb (0.689). Nu s-au observat corelații negative. Mn și Ca nu sunt corelate cu alte elemente. Aceste asocieri între diferite elemente ar putea sugera același loc de origine [14].

În cazul pesticidelor, s-a detectat și identificat un singur compus în proba S₂ care provine din Grecia. Figura 5-2 prezintă cromatograma obținută pe GC-MS, a probei S₂ în intervalul de

timp 32-44 minute. Prin monitorizarea selectivă a ionului $m/z=314$, se poate observa că apare un peak vizibil la momentul 37.58. Spectrul de masă al acestui compus este prezentat în figura 5-3. Pe baza spectrului de masă, compusul a fost identificat ca fiind un fungicid comun numit iprodione. Pentru a determina cantitatea de Iprodione din probă atribuit peak-ului cromatografic, a fost făcută o comparație cu aria standardului extern 2,4,6-Tri-clor-bifenil (PCB 30). Cantitatea astfel calculată a fost de $8.6 \mu\text{g/kg}$ din compusul identificat. În celelalte probe reale de căpșuni analizate nu s-au detectat alte pesticide [14].

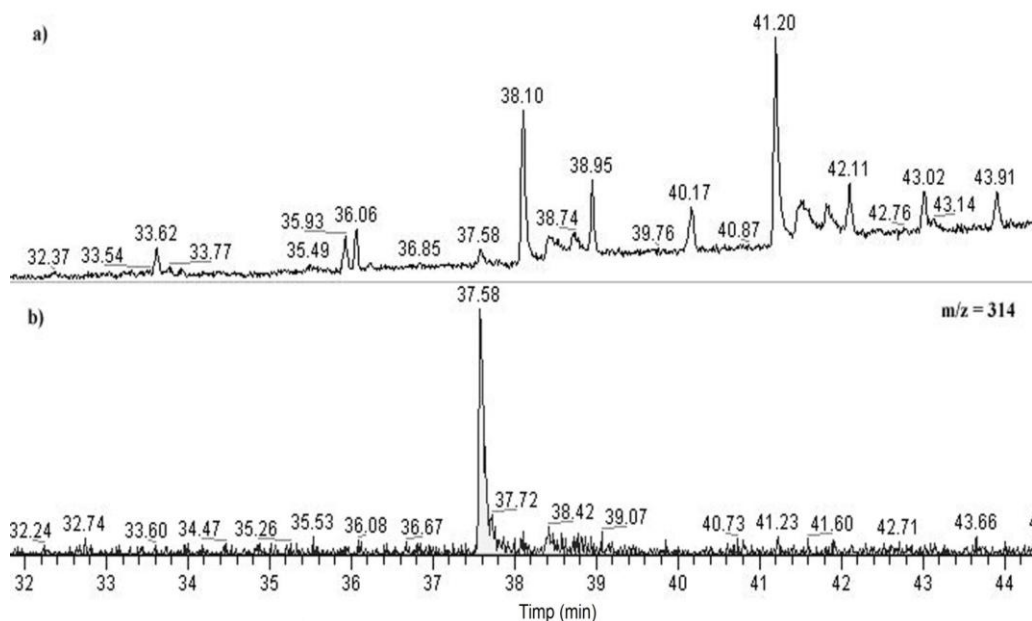


Figura 5-2. Cromatograma GC-MS a probei S_2 în intervalul 32-44 min. a) Cromatograma curentului ionic total (TIC), b) Cromatograma cu monitorizarea selectivă a ionului $m/z=314$ (SIM)

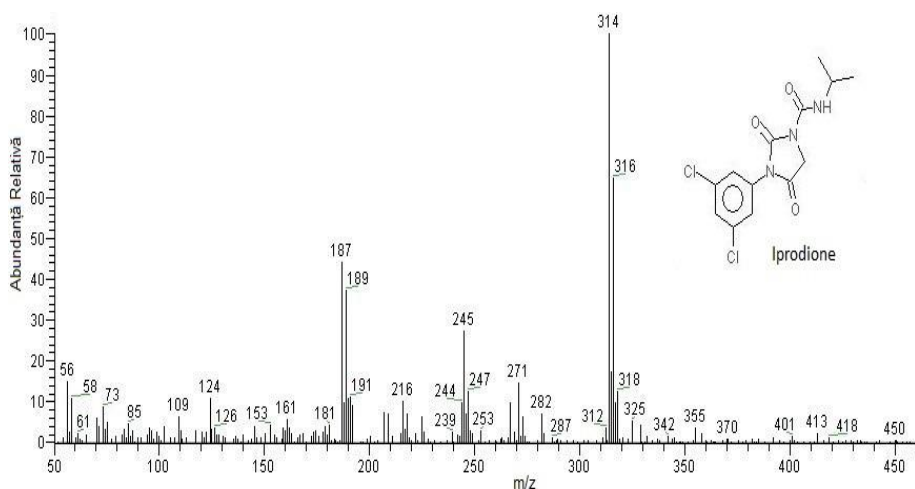


Figura 5-3. Spectrul de masă al compusului identificat de la $T_R = 37.58$ min

Evaluarea conținutului elemental, izotopic și de pesticide în tomate crescute în aer liber și în sere

Tomatele (*Lycopersicon esculentum* sin.: *Solanum lycopersicum*, *Lycopersicon lycopersicum*) aparțin familiei Solanaceae și sunt una dintre cele mai răspândite legume din lume [15]. Serele comerciale, asigură condiții optime de creștere pentru aceste plante și ele sunt utilizate pe scară largă pentru producerea de fructe și legume de calitate superioară [17]. Temperatura moderată și umiditatea ridicată favorizează dezvoltarea plantelor, dar în același timp contribuie și la răspândirea dăunătorilor și a bolilor. În seră se dezvoltă bolile fungice, cum ar fi: mana (*Phytophthora infestans*) și mucegaiul gri (*Botrytis cinerea*) [18]. De asemenea, insectele și acarienii sunt omniprezenți în sere și astfel insecticidele sunt utilizate pe scară largă în protecția tomatelor [19]. Din acest motiv, pentru combaterea dăunătorilor, tomatele crescute în seră sunt stropite cu diferite tipuri de fungicide și insecticide [16, 17].

În acest capitol au fost diferențiate tomatele crescute în aer liber de cele de seră, folosind ca markeri de diferențiere: conținutul de pesticide, micro-macro elemente și izotopic. În acest scop, s-au determinat concentrațiile celor 30 de pesticide studiate, aplicând metoda de extracție QuEChERS și detecția și identificarea prin GC-ECD și GC-MS. S-a determinat conținutul de micro și macro elemente, elemente esențiale, metale toxice, pământuri rare și izotopic din tomate: crescute în aer liber (7 probe) și în seră (14 probe), disponibile pe piața din Transilvania.

6.1. Determinarea reziduurilor de pesticide din tomate crescute în seră și în aer liber

În figura 6-1, este prezentată cromatograma unei probe fortificate de tomate, la un nivel de 40 µg/ml de extract din cele două amestecuri standard de pesticide utilizate pe parcursul studiului. Din cele 30 de pesticide urmărite, au fost detectate, identificate și cuantificate 20. Doar două probe nu au prezentat urme de reziduuri de pesticide și o probă a prezentat un singur reziduu de pesticid (chlorpyrifis methyl). În total 8 probe au prezentat combinații de câte 2 și 3 pesticide (4 probe cu 2 pesticide și 4 probe cu 3 pesticide, din cele 4 probe, două sunt tomate crescute în seră și 2 crescute în aer liber). Zece dintre cele treizeci de pesticide care au fost studiate nu au fost detectate în nici o probă analizată. Din cele 20 de reziduuri de pesticide găsite 17 sunt insecticide, două erbicide și unul fungicid. Nivelele de reziduuri detectate au variat de la

<LOQ la 5.74 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (cu excepția a două probe de tomate crescute în seră, în care s-au detectat: 60.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$ lambda cyhalothrin și respectiv 63.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ chlorpyrifos methyl, concentrații peste MRL stabilite pentru tomate.

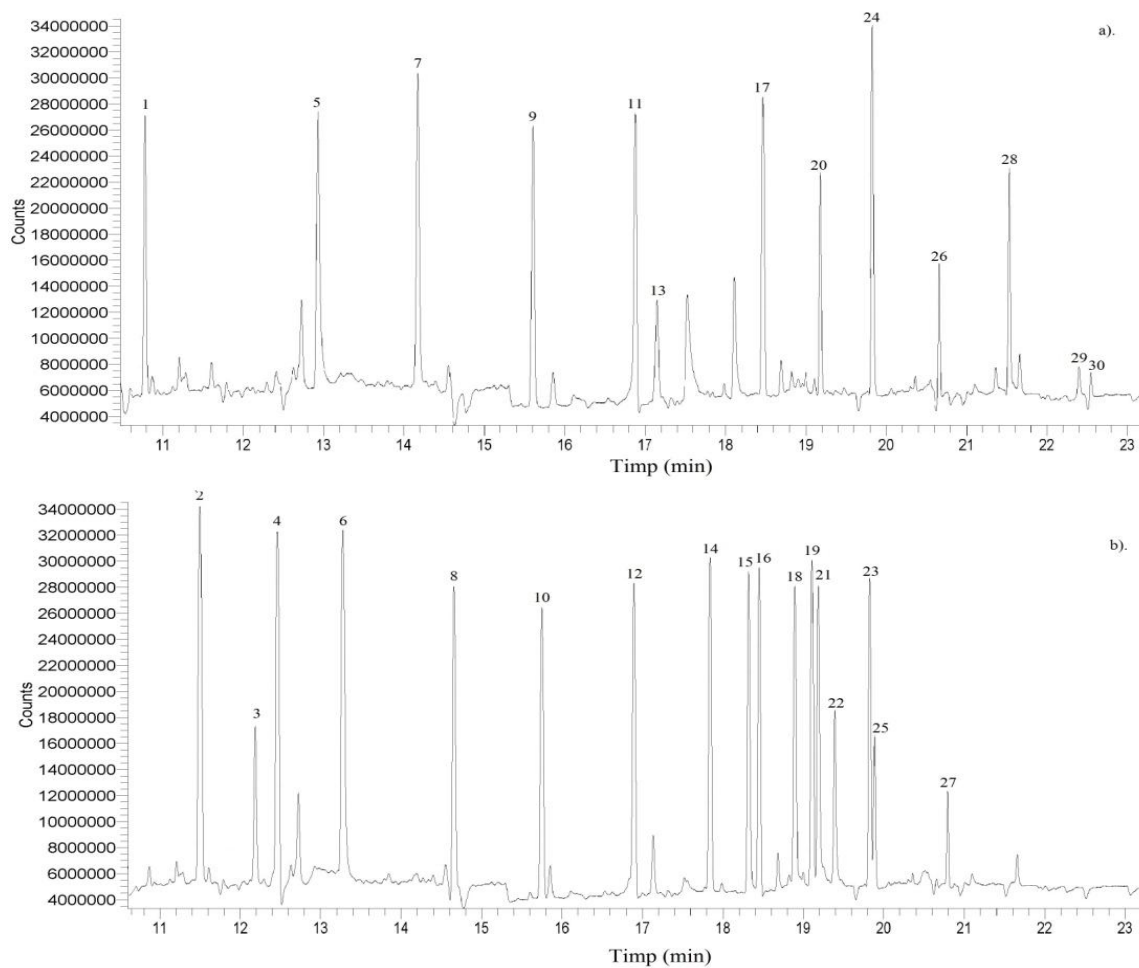


Figura 6-1. Cromatograma GC-ECD a probei de tomate fortificată la 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ din fiecare compus a). Amestec standard de pesticide (AOAC) și b). Amestec standard de pesticide (Appendix IX)

Deși în aproape toate probele reziduurile de pesticide detectate au fost sub MRL, detectarea *lambda*-cyhalothrinului și respectiv a chlorpyrifos methylului peste MRL în două probe, și prezența simultană a două și trei reziduuri de pesticide în probele de tomate poate sugera că principiile bune practici agricole nu sunt respectate [20].

Proba R₂₁ de tomate crescute în aer liber prezintă cel mai mare număr de reziduuri de pesticide detectate (9 pesticide). Endrin, δ -BHC, chlorpyrifos methyl, și Endosulfan I și II au fost cele mai frecvente pesticide detectate în probe. Apariția de mai mult de un pesticid într-o singură probă a fost mai frecventă în seră decât la tomatele crescute în aer liber.

Aceste rezultate sunt o consecință directă a practicilor aplicate în gestionarea dăunătorilor pe fiecare sistem. În condiții de creștere în aer liber, acumularea de pesticide pe fructe poate fi scăzută din cauza efectului direct al precipitațiilor și al radiațiilor solare. Pe de altă parte, în ciuda randamentelor superioare care pot fi atinse, condițiile de creștere în sere favorizează dezvoltarea de focare de dăunători artropozi și îmbolnăvirea plantelor, ceea ce duce la utilizarea excesivă a pesticidelor. Practicile aplicate dăunătorilor, coacerea continuă a fructelor, intervalele de timp între stropire și recoltare în ambele tipuri de creștere (seră/aer liber), nu sunt respectate de producători. Rezultatele obținute de noi nu indică o diferență clară din punct de vedere a reziduurilor de pesticide între sistemele de producere a tomatelor, ambele sisteme prezentând pesticide peste limita de detecție. Ponderea prezenței pesticidelor pentru fiecare probă a fost detectată într-un număr mai mare în probele de seră. Doar în tomatele crescute în aer liber s-a detectat α -BHC și dieldrin, dar în cantități sub MRL.

6.2. Determinarea de macroelemente din tomate crescute în seră și în aer liber

Studiul experimental realizat pentru determinarea de macroelemente (Na, Ca, K, Mg, P) în probele de tomate studiate au evidențiat domenii largi de concentrații. Conținutul total de macroelemente prezente în probele de tomate studiate se poate aranja în următoarea ordine: $K > P > Mg > Ca > Na$. Concentrații mai ridicate au fost obținute pentru P și K. În ceea ce privește conținutul de macroelemente comparativ aer liber/seră, au fost obținute valori medii apropiate, respectiv 4036.55 mg/kg macroelemente pentru probele crescute în aer liber și 4483.903 mg/kg pentru cele crescute în seră (figura 6-3). Diferență mai mare s-a observat pentru Ca, concentrația medie a fost de 687.219 mg/kg pentru cele crescute în aer liber față de 433.088 mg/kg pentru cele crescute în seră. Diferență explicabilă datorită structurii diferite a solului.

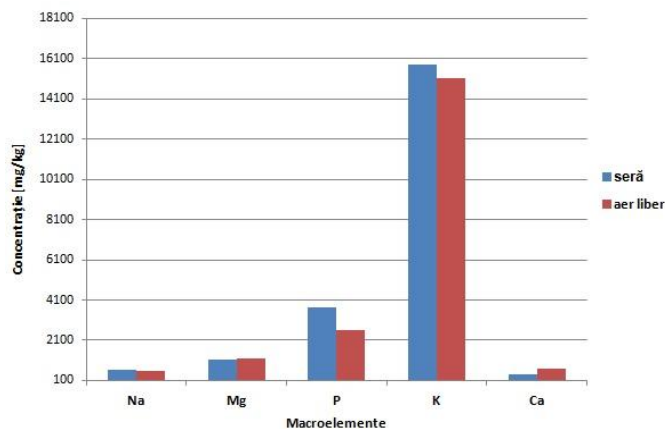


Figura 6-3. Diagrama conținutului de macroelemente în probe de tomate comparativ seră/aer liber

6.3. Determinarea de elemente esențiale și microelemente din tomate crescute în seră și în aer liber

Mn a fost detectat în toate probele de tomate studiate cu o medie de 10.524 mg/kg. Concentrațiile de Fe și Cu, s-au situat în domeniul 24.736-211.539 mg/kg pentru Fe și 5.492-28.337 mg/kg pentru Cu. Concentrațiile de Zn s-au situat în domeniul 10.644-31.459 mg/kg. Pentru probele de tomate studiate s-a obținut o valoare medie de Ni de 2.737 mg/kg, Al între 1.41-34.307 mg/kg. Conținutul de St s-a situat în domeniul de concentrații < 0.0005 - 0.683 mg/kg. Valorile medii ale concentrațiilor de microelemente: B, Ti, V, Co, Ni, Rb, Sr, Ba, Sn, Li au fost: 11.425 mg/kg pentru B, 1.310 mg/kg pentru Ti, 0.042 mg/kg pentru V, 0.092 mg/kg pentru Co, 2.736 mg/kg pentru Ni, 16.645 mg/kg pentru Rb, 3.752 mg/kg pentru Sr, 0.108 mg/kg pentru Sn, 1.165 mg/kg pentru Ba, 0.085 mg/kg pentru Li.

Urmărind comparativ concentrațiile de elemente în probele de aer liber/seră, se poate observa, conform figurii 6-4, că probele de tomate crescute în aer liber prezintă valori mai mici de Cu, Zn, Fe și mai mari de Mn, Al decât cele crescute în seră. Concentrații mari de Fe se pot datora uneltelor de prelucrare a solului (care sunt confecționate din aliaje în care Fe predomină).

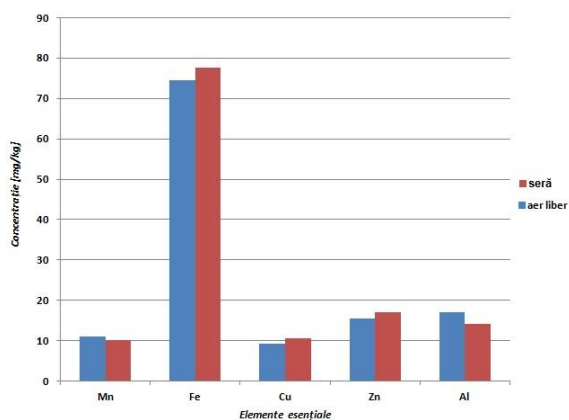


Figura 6-4. Studiul comparativ privind conținutului de elemente esențiale în probe de tomate seră/aer liber

6.4. Determinarea de metale toxice din tomate crescute în seră și în aer liber

Nivelele de Pb în probele analizate s-au situate în intervalul <0.0005-0.28 mg/kg, cele crescute în aer liber prezentând cele mai mici valori. Au existat câteva probe și din seră și dintre cele crescute în aer liber, care au prezentat valori peste limita admisă de legislație (0.1 mg/kg). Cd a fost prezent în toate probele de tomate studiate, intervalul de concentrații a fost 0.028-0.26 mg/kg. Media valorilor pentru tomatele crescute în aer liber a fost de 0.079 mg/kg și de 0.096 mg/kg pentru seră, valori care depășesc limita admisibilă cerută de legislație de 0.05 mg/kg [21],

[22]. Valorile concentrațiilor de As au fost în domeniul 0.0005-0.109 mg/kg. Conținutul de Cr în probele crescute în aer liber fiind mai bogat decât cele din seră. Există o mică diferență între tomatele crescute în aer liber și cele de seră privind conținutul de Hg.

6.5. Determinarea de minerale critice și pământuri rare din tomate crescute în seră și în aer liber

Domeniul de concentrații pentru toate mineralele critice a fost de la < 0.0005-0.132 mg/kg, exceptând Gd pentru care s-a obținut o valoare mai ridicată la una din probele de seră. În ceea ce privește conținutul de metale rare, acestea au fost situate între < 0.0005 și 0.833 mg/kg, valoarea maximă corespunzând conținutului de W într-o probă de tomate crescute în aer liber.

6.6. Diferențierea probelor de tomate între cele cultivate în aer liber și cele în seră utilizând chemometria

Pentru prelucrarea statistică a datelor experimentale obținute, s-au utilizat ca variabile independente: compoziția elementală, izotopică și conținutul de pesticide. Analiza liniară a discriminatului s-a aplicat pentru matricea astfel formată, cele două grupuri predefinite fiind reprezentate de tomate crescute în aer liber și cele crescute în seră (variabila dependentă). După aplicarea acestei metode s-a obținut un procent de 100 % pentru clasificarea inițială (Figura 6-5) și același procent și pentru validarea încrucișată. Datorită faptului că s-au comparat două categorii (grupuri) s-a obținut o singură funcție discriminantă, semnificativă din punct de vedere statistic și care este capabilă să explice în proporție de 100 % variabilitatea datelor experimentale. Această funcție are ca parametri principali următoarele elemente: Al, Sc, Se, Dy, Pb, $\delta^{18}\text{O}$, 4,4'-DDT. Aceste elemente s-au dovedit a fi cei mai buni predictorii pentru a încadra o probă necunoscută ca aparținând grupului de tomate crescute în seră sau celor crescute în aer liber.

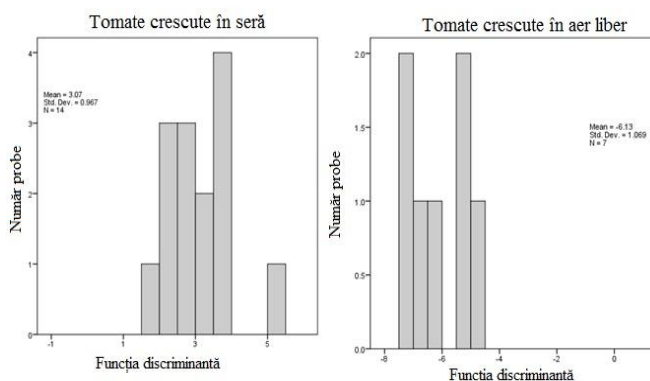


Figura 6-5. Separarea initiala a celor doua grupuri de tomate după aplicarea analizei discriminantului

Scopul principal al acestei teze de doctorat a fost efectuarea unui control privind calitatea unor legume și fructe comercializate pe piața românească utilizând metode complementare de analiză. Parametrii de interes determinați au fost: conținutul de reziduuri de pesticide, rapoartele izotopice ale $^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ (pentru a obține informații legate de originea geografică) și $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (pentru a avea informații despre originea botanică a legumelor și fructelor), conținutul de micro și macroelemente. În acest sens am utilizat următoarele tehnici de analiză: cromatografia de gaze cu detector cu ionizare în flacăra și detector cu captură de electroni, cromatografia de gaze cuplată cu spectrometria de masă, spectrometria de masă pentru rapoarte izotopice și spectrometria de masă cu plasmă cuplată inductiv.

Un total de 159 de probe colectate de la supermarketuri și din piețe agroalimentare din Cluj-Napoca, România au fost investigate dintre care: 50 de probe de legume (morcov, cartof, pătrunjel, păstârnac, fasole verde, dovlecel, vânăță, varză, salată, castravete, conopidă, ardei gras și ardei kapia) din care s-a determinat conținutul de reziduuri de pesticide, 88 de probe de fructe de pădure și 21 de probe de tomate din care s-a determinat conținutul izotopic, micro și macroelemental și de reziduu de pesticide.

Pentru a putea determina nivelele la care se găsesc reziduurile de pesticide în matricele complexe cum sunt legumele și fructele am utilizat metoda de extracție QuEChERS. Ca noutate adusă studiului a fost optimizarea acestei metode cu scopul de a obține extracte mult mai curate și de a elimina compușii nedorți proveniți din matrice și care pot să interfereze cu compușii de interes (prezenți de obicei în cantități foarte mici) în timpul analizei. Metoda propusă a fost utilizată pentru monitorizarea a 30 de pesticide organoclorurate (frecvent utilizate în stropirea legumelor și fructelor) și supusă protocolului de validare pentru a stabili performanțele metodei și aplicabilitatea ei în analiza de rutină a legumelor și fructelor. Rezultatele obținute au indicat o bună selectivitate, liniaritate, precizie, sensibilitate și reproductibilitate în comparație cu datele din literatură apărute în ultimii ani, ceea ce demonstrează că metoda este adecvată pentru analiza multi-reziduală a pesticidelor. De asemenea condițiile experimentale utilizate pentru detecția pesticidelor au fost modificate astfel încât timpul de analiză obținut de ≈ 30 minute să fie foarte rezonabil.

Rezultatele obținute din investigarea celor 50 de probe de legume au furnizat informații importante privind contaminarea cu pesticide a cinci legume consumate în mod obișnuit și au subliniat necesitatea de a controla utilizarea și aplicarea produselor fitosanitare, în special a pesticidelor persistente cum sunt: α -BHC, heptachlor epoxide, dieldrin și endrin. Tolyfluanide și chlorothalonil au fost cei mai frecvenți compuși detectați. Cantitatea cea mai mare de reziduu de tolyfluanide s-a determinat într-o probă de cartofi. Din cele 30 de pesticide organoclorurate monitorizate au fost detectate 21 dintre care 18 insecticide, 2 fungicide și un erbicid. Apariția reziduurilor de pesticide în legume și fructe ar putea fi cauzată de utilizarea lor ilegală sau de utilizarea istorică. Cartofii au fost probele contaminate cu cel mai mare număr de pesticide. Concentrațiile de reziduuri de pesticide în probele investigate au fost în general scăzute cu toate acestea, concentrația lor în anumite legume a depășit limitele maxime admise.

O altă noutate adusă acestei lucrări a fost combinarea mai multor metode analitice complementare în ceea ce privește calitatea și siguranța alimentelor cu referire în special la fructele de pădure din zona Transilvaniei. Prezintă prima preocupare de amprentare izotopică a fructelor de pădure și inițierea primei baze de date care să conțină toți parametrii determinați. Studiul constituie o noutate pe plan național.

Pentru a diferenția fructele de pădure de cultură de cele sălbatice s-a determinat compoziția izotopică a carbonului, oxigenului și hidrogenului prin IRMS, iar pentru măsurători complementare de conținut elemental s-a utilizat tehnica ICP-MS.

Din rezultatele obținute s-au observat diferențe statistice semnificative în conținut izotopic și micro-macroelement al speciilor de fructe de pădure care cresc în diferite zone ale Transilvaniei. Valorile izotopice a fructelor de pădure de cultură sunt mai mari decât cele ale fructelor de pădure sălbatice. Fapt explicat prin diferența de altitudine, fructele sălbatice crescând la altitudini mai mari decât cele de cultură. Precipitațiile care cad la altitudini ridicate având o compoziție izotopică mai scăzută comparativ cu cele de la altitudini mici. Rezultatele sunt în concordanță totală cu teoria separărilor izotopice. Corelațiile dintre determinările izotopice și elementale s-au făcut utilizând metode chemometrice. Nivelele de reziduuri de pesticide s-au determinat doar din fructele de pădure de cultură și s-a detectat prezența a două pesticide (α -BHC și chlorpyrifos methyl).

În vederea autentificării în raport cu originea geografică s-au testat 17 probe de căpșuni produse în 7 țări europene. În acest scop s-au determinat rapoartele de izotopi stabili așa numitele

”bio-elemente” ($^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$). Diferențele dintre rapoartele izotopice obținute se corelează perfect cu valorile climaterice a regiunii de cultivare (cele mai mici valori s-au înregistrat într-o probă din Germania și cele mai înalte într-o probă din Italia). Din rezultatele privind conținutul elementelor minerale din căpșuni se poate observa că atât din punct de vedere calitativ cât și cantitativ elementele depind puternic de zona de creștere.

Diferențierea probelor de căpșuni din punct de vedere al conținutului de minerale și metale au fost stabilite pe baza analizei chemometrice (corelația Pearson și analiza componentelor principale). Din totalul probelor investigate doar într-o probă provenită din Grecia s-a detectat prezența unui pesticid. Pentru identificarea lui s-a utilizat sistemului cuplat cromatograf de gaze cu spectrometru de masă. Prin monitorizarea selectivă a ionului $m/z=314$ se poate observa că apare un peak vizibil la momentul 37.58. Pe baza spectrului de masă, compusul a fost identificat ca fiind un fungicid comun numit iprodione frecvent utilizat în stropirea căpșunilor.

Pentru diferențierea tomatelor crescute în aer liber de cele de seră s-au utilizat următorii markeri de diferențiere: conținutul de pesticide, micro-macroelemente și rapoartele izotopice. Conținutul de reziduuri de pesticide a variat de la sub limita de cuantificare până la $5.74 \mu\text{g}/\text{kg}$ cu excepția a două probe de tomate crescute în seră în care s-a detectat o cantitate de $60.07 \mu\text{g}/\text{kg}$ lambda-cyhalothrin și respectiv $63.15 \mu\text{g}/\text{kg}$ chlorpyrifos methyl. Din datele obținute rezultă faptul că pesticidele nu indică o diferență clară între sistemele de producere a tomatelor, ambele sisteme prezentând pesticide peste limita de detecție. Conținutul total de macroelemente prezente în probele de tomate studiate se poate aranja în următoarea ordine $\text{K} > \text{P} > \text{Mg} > \text{Ca} > \text{Na}$. Măsurătorile au fost focalizate de asemenea pe așa numitele elemente esențiale (Mn, Fe, Cu, Zn) și asupra metalelor toxice (Pb, Cd, As, Cr și Hg) concentrațiile acestora fiind discutate pe grupul de probe investigate. Rapoartele izotopice ale oxigenului și pământurile rare au potențial ridicat de discriminare între diferite categorii de legume (organic/convențional și seră/aer liber) și se pot folosi ca markeri de diferențiere între acestea.

Rezultatetele prezentului studiu confirmă necesitatea investigării calității legumelor și fructelor și crează premisele implementării unui laborator de înaltă performanță pentru realizarea unui program de monitorizare pentru legumele și fructele consumate la nivel local.

1. **F.D. Covaciu**, D.A. Magdas, A. Dehelean, I.C. Feher and S. Radu. *Elemental, Isotopic, and Pesticide Analysis of Wild and Cultivated Berries*. Analytical Letters. DOI: 10.1080/00032719.2017.1299161. (Article in Press). **2017. (IF: 1.150)**.
2. **F.D. Covaciu**, D.A. Magdas, O. Marincas and Z. Moldovan. *Determination of Pesticides in Carrots by Gas Chromatography and Mass Spectrometry*. Analytical Letters. DOI: 10.1080/00032719.2016.1263313. (Article in Press). **2017. (IF: 1.150)**.
3. **F.D. Covaciu**, Z. Moldovan, A. Dehelean, D.A. Magdas, I.C. Feherm R. Puscas si M. Vlassa. *Determination of Pesticides, Elements and Isotopes in Strawberries*. Analytical Letters. 49 (16): 2560-2572. DOI: 10.1080/00032719.2016.1140175. **2016. (IF: 1.150)**.
4. D.A. Magdas, G. Cristea, R. Puscas, **F. Tusa**. *The use of isotope ratios in commercial fruit juices authentication*. Romanian Journal of Physics. 59 (3-4): 355-359. **2014. (IF: 0.924)**.
5. G. Schmutzer, V. Avram, **F. Covaciu**, I. Feher, A. Magdas, L. David, Z. Moldovan. *Study of Flavour Compounds from Orange Juices by HS-SPME and GC-MS*. American Institute of Physics: Conference Series AIP Conf. Proc. 1565: 79-84. **2013. (IF: 0)**.
6. **F. D. Tuşa**, Z. Moldovan, G. Schmutzer, D.A. Magdaş, A. Dehelean and M. Vlassa. *Analysis of Flavor Compounds by GC/MS after Liquid-Liquid Extraction from Fruit Juices*. American Institute of Physics: Conference Series AIP Conf. Proc. 1425: 53-57. **2012. (IF: 0)**.
7. D.A. Magdas, A. Dehelean, R. Puscas, G. Cristea, **F. Tusa**, C. Voica. *The Quality Control Of Fruit Juices By Using The Stable Isotope Ratios And Trace Metal Elements Concentrations*. American Institute of Physics: Conference Series AIP Conf. Proc. 1425: 178-181. **2012. (IF: 0)**.
8. **F. Tusa**, Z. Moldovan and M. Vlassa. *Identification and measurement of pesticide contaminants in food products by electron impact GC/MS*. Journal of Physics: Conference Series 182. 012043. **2009. (IF: 0)**.

1. **F.D. Covaciu**, D.A. Magdas, A. Dehelean, I.C. Feher and R. Puscas. *Multi-elemental, isotopic and trace pesticides analysis of wild and cultivated berries species*. International Conference on Analytical Methods from Biomedical and Environmental Sciences IC-ANMBES 2016. Brasov. Romania. June 29th - July 1th. **2016**.
2. **F.D. Covaciu**, D.A. Magdas, O. Marincas and Z. Moldovan. *Determination of trace pesticides in carrot samples having different origin by chromatography and mass-spectrometry methods*. International Conference on Analytical Methods from Biomedical and Environmental Sciences IC-ANMBES 2016. Brasov. Romania. June 29th - July 1th. **2016**.
3. **F.D. Covaciu**, Z. Moldovan, A.A. Dehelean, D.A. Magdas, I.C. Feher, R. Puscas, and M. Vlassa. *Comparison among strawberries grown in different countries from: pesticides, heavy metals and stable isotope content point of view*. Processes in Isotopes and Molecules. Cluj-Napoca. Romania. September 23-25th. **2015**.
4. G. Schmutzer, I. Feher, O. Marincas, V. Avram, M.H. Kovacs, A. Magdas, **F. Covaciu**, L. David, Z. Moldovan. *Study of flavour compounds from orange juices by HS-SPME and GC-MS*. Processes in Isotopes and Molecules. Cluj-Napoca. Romania. September 23-25th. **2013**.
5. C. Voica, **F. Tusa**, M. Kovacs, A. Iordache. *Multivariate characterization of Romanian wines according to their metallic and organic content*. EuroFoodChem XVII. **Istanbul. Turcia. May 7-10th. 2013**.
6. **F.D. Tusa**, Z. Moldovan, V. Mirel and M. Vlassa. *Analysis of pesticides by GC/MS after liquid-liquid extraction in comercial fruit juices from Romania*. International Conference on Analytical Methods from Biomedical and Environmental Sciences IC-ANMBES 2012. Brasov. Romania. May 24-27th. **2012**.
7. **F.D. Tuşa**, Z. Moldovan, G. Schmutzer, D.A. Magdaş, A. Dehelean and M. Vlassa. *Analysis of Flavor Compounds by GC/MS after Liquid-Liquid Extraction from Fruit Juices*. Processes in Isotopes and Molecules. Cluj-Napoca. Romania September 29th - October 01th. **2011**.
8. A. Dehelean, A. Magdas, **F. Tusa** and G. Schmutzer. *Multielement and stable isotope determinations in some Transylvanian fruit juices*. Processes in Isotopes and Molecules. Cluj-Napoca. Romania

September 29th - October 01th. **2011**.

9. D. A. Magdas, A. Dehelean, R. Puscas, G. Cristea, **F. Tusa**, C. Voica. *The Quality Control Of Fruit Juices By Using The Stable Isotope Ratios And Trace Metal Elements Concentrations*. Processes in Isotopes and Molecules. Cluj-Napoca. Romania. September 29th - October 01th. **2011**.

10. **F. D. Tuşa**, Z. Moldovan, D.A. Magdaş, A. Dehelean and M. Vlassa. *The characterization of some commercial romania fruit juices using mass spectrometry methods (IRMS, GC/MS and ICP-MS)*. 16th European Conference on Analytical Chemistry–EUROanalysis16. "Challenges in Modern Analytical Chemistry". Belgrade. Serbia. September 11-15th. **2011**.

11. A. Dehelean, D.A. Magdas, **F.D. Tusa**. *The investigation of trace metals content and stable isotopes composition on the soil-leave fruit chain from some Transylvanian areas*. 16th European Conference on Analytical Chemistry–EUROanalysis16. "Challenges in Modern Analytical Chemistry". Belgrade. Serbia. September 11-15th. **2011**.

12. **F. Tusa**, Zaharie Moldovan and Mircea Vlassa. *Analytical method for identification and measurement of pesticide traces in food products by GC/MS system*. International Conference on Analytical Methods from Biomedical and Environmental Sciences IC-ANMBES. Brasov. Romania. June 18-20th. **2010**.

13. **F. Tusa**, Zaharie Moldovan and Mircea Vlassa. *Identification and measurement of pesticide contaminants in food products by electron impact GC/MS*. Conference Processes in Isotopes and Molecules. Cluj-Napoca. Romania. September 24-26th. **2009**.

Bibliografie selectivă

- [1] L. B. Abdulra'uf, W. A. Hammed, and G. H. Tan, "SPME Fibers for the Analysis of Pesticide Residues in Fruits and Vegetables: A Review," *Crit. Rev. Anal. Chem.*, vol. 42, no. 2, pp. 152–161, 2012.
- [2] J. Garrido Frenich, A., Martínez Vidal, *Pesticide Protocols*. 2006.
- [3] X. Guo, X. Zhang, Q. Cai, T. Shen, and S. Zhu, "Developing a novel sensitive visual screening card for rapid detection of pesticide residues in food," *Food Control*, vol. 30, no. 1, pp. 15–23, 2013.
- [4] A. Agüera, M. Contreras, J. Crespo, and A. R. Fernández-Alba, "Multiresidue method for the analysis of multiclass pesticides in agricultural products by gas chromatography-tandem mass spectrometry," *Analyst*, vol. 127, no. 3, p. 347, 2002.
- [5] J. Namiesnik and P. Szefer, "Preparing Samples for Analysis - the Key To Analytical Success," *Ecol. Chem. Eng.*, vol. 15, no. 2, pp. 167–244, 2008.
- [6] W. E. Brewer, H. Guan, S. L. Morgan, F. Foster, E. Pfannkoch, and D. Singer, "Automated Disposable Pipette Extraction of Pesticides from Fruits and Vegetables," *Glob. Anal. Solut.*, pp. 1–9, 2008.
- [7] F. D. Covaciu, D. A. Magdas, O. Marincea, and Z. Moldovan, "Determination of Pesticides in Carrots by Gas Chromatography - Mass Spectrometry," *Anal. Lett.*, 2017.
- [8] D. A. Magdas, G. Cristea, R. Puscas, and F. Tusa, "The use of isotope ratios in commercial fruit juices authentication," *Romanian Journal of Physics*, vol. 59, no. 3-4, pp. 355–359, 2014.
- [9] M. A. Radwan and A. K. Salama, "Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables," *Food Chem. Toxicol.*, vol. 44, no. 8, pp. 1273–1278, 2006.
- [10] M. A. Elbagermi, H. G. M. Edwards, and A. I. Alajtal, "Monitoring of Heavy Metal Content in Fruits and Vegetables Collected from Production and Market Sites in the Misurata Area of Libya," *ISRN Anal. Chem.*, vol. 2012, pp. 1–5, 2012.
- [11] P. Brack, V. F. Kinupp, M. Eduardo, and G. Sobral, "Potencial Do Rio Grande Do Sul," pp. 1769–1772, 2007.
- [12] V. F. Kinupp and I. B. I. de Barros, "Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas," *Ciência e Tecnol. Aliment.*, vol. 28, no. 4, pp. 846–857, 2008.
- [13] F. D. Covaciu, D. A. Magdas, A. Dehelean, I. C. Feher, and S. Radu, "Elemental, Isotopic, and Pesticide Analysis of Wild and Cultivated Berries," *Anal. Lett.*, In Press, 2017.
- [14] F. D. Covaciu, Z. Moldovan, A. A. Dehelean, D. A. Magdas, I. C. Feher, R. Puscas, and M. Vlassa, "Determination of Pesticides, Elements, and Stable Isotopes in Strawberries," *Anal. Lett.*, vol. 49, no. 16, pp. 2560–2572, 2016.
- [15] S. Engindeniz, "Economic analysis of pesticide use on processing tomato growing: A case study for Turkey," *Crop Prot.*, vol. 25, no. 6, pp. 534–541, 2006.
- [16] A. Bidari, M. R. Ganjali, P. Norouzi, M. R. M. Hosseini, and Y. Assadi, "Sample preparation method for the analysis of some organophosphorus pesticides residues in tomato by ultrasound-assisted solvent extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction," *Food Chem.*, vol. 126, no. 4, pp. 1840–1844, 2011.
- [17] G. Acquaaah, "Horticulture: principles and practices," 2nd ed. New Jersey: Pearson Education, 2002.
- [18] A. Angioni, L. Porcu, and F. Dedola, "Determination of famoxadone, fenamidone, fenhexamid and iprodione residues in greenhouse tomatoes," *Pest Manag. Sci.*, vol. 68, no. 4, pp. 543–547, 2012.
- [19] P. V. Nelson, "Greenhouse Operation and Management," 5 th ed. New Jersey: Prentice Hall, 1998.
- [20] EFSA, "European Food Safety Authority - Info session on applications of pesticides - technical meeting with stakeholders on EFSA GD on residue definition for dietary risk assessment," Parma, 2016.
- [21] European Commission, "Commission Regulation No 1881/2006 of 19 December 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs.," *Off. J. Eur. Union*, vol. 364, pp. 5–24, 2006.
- [22] FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization), "Guide for developing and improving national food recall systems," Rome, 2012.

Mulțumiri

Această lucrare a fost realizată sub îndrumarea și cu sprijinul deosebit al domnului prof. emerit dr. Mircea Vlassa, căruia îi mulțumesc pentru că a acceptat să mă îndrume oferindu-mi toată încrederea și sprijinul pe întreaga perioadă de desfășurare a cercetărilor și fără de care nu ar fi fost posibilă realizarea și finalizarea acestei teze de doctorat.

De asemenea, le adresez alese mulțumiri membrilor Comisiei de Evaluare a tezei de doctorat și anume: dnei conf. dr. ing. Castelia Cristea, d-lui dr. Zaharie Moldovan, d-lui prof. Dr. Ing. Ionel Ciucanu de la Universitatea de Vest Timișoara și nu în ultimul rând Președintelui comisiei: d-lui. prof. dr. Vasile-Mircea Diudea.

Membrilor Comisiei de Îndrumare din cadrul Facultății de Chimie și Inginerie Chimică le mulțumesc pentru sugestiile și sfaturile acordate pe toată durata elaborării tezei, și anume: dnei conf. dr. ing. Castelia Cristea, dnei conf. dr. ing. Luminița-Camelia David, și d-lui. prof. dr. Vasile-Mircea Diudea.

Mulțumiri speciale conducerii Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice, Cluj-Napoca, pentru sprijinul financiar acordat.

Sincere și calde mulțumiri, adresez întreg colectivului din Departamentul de Spectrometrie de Masă, Cromatografie și Fizică Aplicată, în mod deosebit doamnei dr. Dana Alina-Magdaș și domnului dr. Zaharie Moldovan, din cadrul Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Tehnologii Izotopice din Cluj-Napoca pentru sprijinul constant, amabilitatea, îndrumarea și încurajările acordate de care am beneficiat pe parcursul realizării studiului și analizelor de laborator.

De asemenea, sincere mulțumiri tuturor colegilor care direct, sau indirect m-au sprijinit în efectuarea și finalizarea acestei teze.

Nu în ultimul rând, mulțumesc familiei mele, soțului pentru sprijinul și înțelegerea acordată, fetiței noastre care încă din burtică a participat la demersurile finale, pentru a realiza această cercetare precum și părinților mei, fratelui meu pentru grija și necontenitele încurajări adresate pe parcursul anilor de studiu.