

Ракитский В.Н., Федорова Н.Е., Егорченкова О.Е., Гречина М.С., Сулова А.В.

## Безопасность сельскохозяйственной продукции: многокомпонентное определение остаточных количеств пестицидов в зерне

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора,  
1410014, Мытищи, Московская область

**Введение.** Зерно составляет важную часть в питании человека и в настоящее время принадлежит к продуктам, в большом объеме производимым и потребляемым во всём мире. Зерновые культуры возделывают с применением целого ряда химических средств защиты растений (гербицидов, инсектицидов, фунгицидов, регуляторов роста). В этой связи анализ остаточных количеств пестицидов, включая оптимизацию, развитие методов и программ мониторинга, приобретает особую важность.

**Цель работы** состояла в создании многокомпонентного метода определения остаточных количеств пестицидов различных химических классов и их метаболитов в зерне хлебных злаков.

**Материал и методы.** Идентификацию и количественное определение действующих веществ пестицидов различных классов (неоникотиноиды, триазолы, имидазолы, пиретроиды, фосфорорганические соединения, стробилурины и др.) при совместном присутствии выполняли методами, основанными на применении жидкостной и газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС и ГЖХ-МС). В качестве метода пробоподготовки использована технология QuEChERS, основанная на экстракции пестицидов органическим растворителем из гомогенизированного образца зерна в присутствии солей, содержащих цитратный буфер, и очистке экстрактов от полярных соединений дисперсионной твердофазной экстракцией.

**Результаты.** Созданный многокомпонентный метод определения остаточных количеств пестицидов различных химических классов и их метаболитов (всего 40 наименований) в зерне хлебных злаков использован для контроля уровней исследованных ксенобиотиков в образцах зерна пшеницы, ячменя и кукурузы, произведённых в различных регионах Российской Федерации (Московская, Ленинградская, Орловская, Омская, Воронежская, Рязанская, Ростовская, Волгоградская области, Краснодарский край), а также в зерне риса (страна происхождения Вьетнам), приобретённого на потребительском рынке. Идентифицированные уровни отдельных действующих веществ были существенно ниже установленных величин МДУ.

**Заключение.** Разработанный метод направлен на методическое обеспечение контроля безопасности пищевой продукции.

**К л ю ч е в ы е с л о в а :** пестициды; метод QuEChERS; газожидкостная хроматография; масс-селективный детектор; высокоэффективная жидкостная хроматография; масс-спектрометрический детектор с тройным квадрулем; зерно хлебных злаков.

**Для цитирования:** Ракитский В.Н., Федорова Н.Е., Егорченкова О.Е., Гречина М.С., Сулова А.В. Безопасность сельскохозяйственной продукции: многокомпонентное определение остаточных количеств пестицидов в зерне. Гигиена и санитария. 2020; 99 (9): 968-974. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-9-968-974>

**Для корреспонденции:** Федорова Наталья Евгеньевна, доктор биол. наук, зав. отделом аналитических методов контроля ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 1410014, Мытищи, Московская область. E-mail: [analyt1@yandex.ru](mailto:analyt1@yandex.ru)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование проведено в рамках выполнения Госзадания ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора.

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Ракитский В.Н., Федорова Н.Е.; сбор и обработка материала – Егорченкова О.Е., Гречина М.С.; статистическая обработка – Егорченкова О.Е., Гречина М.С., Сулова А.В.; написание текста – Федорова Н.Е., Егорченкова О.Е.; редактирование – Федорова Н.Е. утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – Ракитский В.Н., Федорова Н.Е.

Поступила 21.07.2020  
Принята к печати 18.09.2020  
Опубликована 20.10.2020

Valerii N. Rakitskii, Nataliya E. Fedorova, Olga E. Egorchenkova, Marina S. Grechina, Alena V. Suslova

## Safety of agricultural products: multicomponent determination of pesticide residues in cereals

F.F. Erisman Federal Scientific Center of Hygiene, Federal Service for Supervision of Consumer Rights  
Protection and Human Welfare, 141014, Mytishchi, Moscow region, Russian Federation

**Introduction.** Cereal grain is an important part of the human daily diet and belongs to a large number of food items produced and consumed throughout the world. Cereals are cultivated using a long list of chemical plant protection products (herbicides, insecticides, fungicides, growth regulators). In this connection, the analysis of pesticide residues, including optimization, development of monitoring methods, and programs, is of particular importance.

**Purpose of the work.** To create a multicomponent method for determining residual amounts of pesticides of various chemical classes and their metabolites in cereals.

**Material and methods.** The identification and quantitative determination of the active substances of pesticides of various classes (neonikotinoids, triazoles, imidazoles, pyrethroids, organophosphorus compounds, strobilurins, etc.) in the joint presence were performed by methods based on the use of liquid and gas-liquid chromatography with mass spectrometric detection. The QuEChERS technology was used as a sample preparation method, based on the extraction of pesticides with an organic solvent from a homogenized grain sample in the presence of salts containing citrate buffer and purification of the extracts from polar compounds by solid-state dispersion extraction.

**Results.** The developed multicomponent method for determining the residual amounts of pesticides of various chemical classes and their metabolites (40 items in total) in cereals was used to control the levels of xenobiotics studied in wheat, barley and corn samples produced in various regions of the Russian Federation (Moscow, Leningrad, Orel, Omsk, Voronezh, Ryazan, Rostov, Volgograd regions, Krasnodar Area), as well as in rice grain (the country of origin is the Socialist Republic of Vietnam) purchased using a consumer buying process. The identified levels of individual active substances were significantly lower than the established values of the maximum allowable level.

**Conclusion.** The developed method is aimed at methodological support of food safety control.

**Key words:** pesticides; the QuEChERS method; gas-liquid chromatography; mass-selective detector; high-performance liquid chromatography; triple quadrupole mass spectrometric detector; cereal grain.

**For citation:** Rakitskii V.N., Fedorova N.E., Egorchenkova O.E., Grechina M.S., Suslova A.V. Safety of agricultural products: multicomponent determination of pesticide residues in cereals. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2020; 99 (9): 968-974. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-9-968-974> (In Russ.)

**For correspondence:** Nataliia E. Fedorova, MD, Ph.D., DSci., Head of the department of analytical control methods, F. Erisman Federal Scientific Center of Hygiene, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 141014, Mytishchi, Moscow region, Russian Federation. E-mail: [analyt1@yandex.ru](mailto:analyt1@yandex.ru)

**Information about the authors:**

Rakitskii V.N., <https://orcid.org/0000-0002-9959-6507>; Fedorova N.E., <https://orcid.org/0000-0001-8278-6382>; Egorchenkova O.E., <https://orcid.org/0000-0003-4653-6970>; Grechina M.S., <https://orcid.org/0000-0003-3324-5090>; Suslova A.V., <https://orcid.org/0000-0001-8181-4409>

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgment.** The study was carried out within the framework of the State Assignment of the Federal Scientific Center of Hygiene named after F. Erisman, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare.

**Contributions:** research concept and design – Rakitskii V.N., Fedorova N.E.; collection and processing of material – Egorchenkova O.E., Grechina M.S.; statistical processing – Egorchenkova O.E., Grechina M.S., Suslova A.V.; text writing – Fedorova N.E., Egorchenkova O.E.; editing – Fedorova N.E.; approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

Received: July 21, 2020

Accepted: September 18, 2020

Published: October 20, 2020

## Введение

Зерновые относятся к ряду продуктов, имеющих значительное производство и потребление во всём мире вследствие исключительной важности в питании, обусловленной их ролью как источника энергии, высоким содержанием эссенциальных жиров, кислот, питательных белков и клетчатки, поставщика важных минералов, витаминов и других микронутриентов, необходимых для нормального функционирования организма.

В Российской Федерации, имеющей значительный аграрный сектор, уровень производства зерна не только оказывает влияние на экономику государства, но и является основой его продовольственной безопасности. Основные направления государственной политики в сфере обеспечения продовольственной безопасности Российской Федерации, определённые в Доктрине продовольственной безопасности Российской Федерации, включают контроль соответствия пищевой продукции требованиям законодательства Евразийского экономического союза о техническом регулировании, продолжение гармонизации международных требований, характеристик и параметров качества и безопасности пищевой продукции на основе фундаментальных исследований в области гигиены и науки о питании, обеспечение совершенствования лабораторной базы, методологических и методических подходов, технологий, оборудования для проведения экспертиз и научно-исследовательских работ в отношении сельскохозяйственной продукции<sup>1</sup>.

Большая потребность в зерне, так же как и в продуктах его переработки для питания населения всего мира, требует значительных усилий для повышения объёмов производства, особенно важная роль в котором отводится пестицидам. Современная технология выращивания зерновых культур базируется на обоснованной системе защиты от вредных организмов, невозможной без применения химических средств защиты растений, которые являются неотъемлемой частью технологий возделывания сельскохозяйственных культур во всём мире [1–3].

Отмечается, что даже в случае применения пестицидов в соответствии с правилами Надлежащей сельскохозяйственной практики (GAP) в зерновых могут выявляться остаточные количества пестицидов, что является причиной возможного их появления в продуктах переработки сельскохозяйственной продукции [4–6].

Каталог пестицидов, разрешённых к применению на территории Российской Федерации [7], включает более 800 препаратов, разрешённых к применению на зерновых культурах. Согласно ГН 1.2.3539-2018<sup>2</sup>, максимально допустимые уровни действующих веществ пестицидов в зерне хлебных злаков установлены для более 170 наименований активных ингредиентов.

Разное физико-химическое поведение пестицидов, низкие концентрации для идентификации делают их особенно трудоёмкими для мониторинга остаточных количеств, что обосновывает потребность в постоянном развитии методов, создании высокочувствительных, селективных технологий, позволяющих идентифицировать вещества на уровне установленных величин МДУ.

Различные процедуры пробоподготовки предложены вследствие широкого разнообразия используемых пестицидов и присущей сложности матрицы. При этом отмечается, что мешающее влияние в анализе может оказывать достаточно высокое содержание липидов в отдельных образцах зерна [8–13].

В последнее время интенсивно развивается метод QuEChERS («быстрый, лёгкий, дешёвый, надёжный и безопасный») как заслуживающий внимания для определения остаточных количеств пестицидов в разнообразных матрицах. Известно, что метод QuEChERS был предложен в 2003 г. [14] для определения остаточных количеств пестицидов в продуктах, не содержащих жир, в частности фруктах и овощах. Метод, основанный на исходной экстракции ацетонитрилом и последующей ступени очистки с использованием дисперсионной твердофазной экстракции (ТФЭ), снижает

<sup>1</sup> Доктрина продовольственной безопасности Российской Федерации (утв. Указом Президента РФ от 21 января 2020 г. № 20).

<sup>2</sup> Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень): ГН 1.2.3539-18: Утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 33 от 01.05.2018 г.

объёмы образцов и растворителей по сравнению с традиционными способами, основанными на перераспределении с жидкостью, является простым, быстрым и менее дорогим.

Многокомпонентные подходы к определению остаточных количеств целого ряда пестицидов различной химической природы, основанные на применении тандемной жидкостной и газовой масс-спектрометрии в сочетании с современной технологией пробоподготовки образцов, успешно реализованы в ряде официальных методов определения остаточных количеств пестицидов, вошедших в Информационный фонд Российской Федерации по обеспечению единства измерений, размещённый на сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в разделе ФГИС «АРШИН»<sup>3</sup>.

Существует возможность его использования для анализа зерна и продуктов переработки, однако опубликованных работ в данной области относительно мало [10, 11, 15–21] по сравнению с числом исследований в других матрицах.

Цель исследования — создание многокомпонентного метода определения остаточных количеств пестицидов различных химических классов (их метаболитов) в зерне хлебных злаков с использованием ТФЭ (технология QuEChERS) с последующей идентификацией методами, основанными на применении жидкостной и газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС и ГЖХ-МС).

## Материал и методы

**Реактивы.** Образцы аналитических стандартов с чистотой более 95% получены из различных источников (Dr. Ehrenstorfer, Германия; Sigma-Aldrich, Bayer, Германия; Cheminova, Дания). Индивидуальные исходные стандартные растворы с концентрацией 100 мкг/мл приготовлены в метаноле (J.T. Baker, США). Последовательным разбавлением метанолом или ацетоном (Fisher Scientific UK, США) получены рабочие растворы для калибровки в диапазоне концентраций 0,0025–0,5 мкг/мл (в зависимости от действующего вещества). Все стандартные образцы и исходные растворы хранили при температуре ниже –18 °С, рабочие растворы — при температуре 2–6 °С.

Пробоподготовка выполнена с использованием ацетонитрила для ВЭЖХ, чистота не менее 99,9%, муравьиной кислоты, 99,7%, уксусной кислоты ледяной, воды для ВЭЖХ-МС (Panreac, Испания); экстракционных наборов VetexQ для анализа остаточных количеств пестицидов из образцов фруктов и овощей, содержащих жиры, парафины и зёрна, комбикормов при контроле продуктов питания (Компания Интерлаб), включающих набор солей для экстракции (4 г сульфата магния безводного, 1 г хлорида натрия, 1 г цитрата натрия, 0,5 г натрия лимоннокислого двузамещённого, 1,5-водного), дисперсионный набор для очистки экстрактов на основе первично-вторичного амина (ПВА), магния сернокислого и твердофазного сорбента на основе октадецилсилана; полипропиленовые пробирки вместимостью 50 и 15 мл, а также керамические гомогенизаторы; фильтры мембранные капроновые (0,22 мкм) для фильтрации проб с помощью шприца.

Образцы зерна пшеницы, ячменя (12 образцов), кукурузы (8 образцов), риса (8 образцов) были приобретены на потребительском рынке (г. Москва).

**Подготовка образцов.** Пробоподготовку образцов выполняли по технологии QuEChERS, основанной на экстракции пестицидов органическим растворителем из гомогенизированной пробы анализируемого образца в присутствии солей,

очистке экстрактов ТФЭ, при необходимости концентрировании экстракта перед анализом.

Образцы зерна предварительно измельчали с помощью куттера Robot Coup 10 (Франция) с применением сухого льда и хранили при температуре ниже –18 °С до анализа.

Процедура пробоподготовки: 5 г образца измельчённого зерна помещали в полипропиленовую центрифужную пробирку на 50 мл, вносили 10 мл деионизированной воды, экстрагировали 10 мл ацетонитрила в присутствии солей для экстракции на основе цитратного буфера, тщательно перемешивали с помощью керамического гомогенизатора, вносили смесь солей для экстракции, встряхивали смесь вручную в течение 1 мин. Затем смесь центрифугировали в течение 5 мин со скоростью 4000 об./мин. Порцию верхнего слоя (~ 6 мл) переносили в центрифужную полипропиленовую пробирку на 15 мл, содержащую сорбенты, для очистки экстракта. Смесь встряхивали вручную 1 мин, затем центрифугировали 5 мин при скорости 4000 об./мин для разделения твёрдой и жидкой фаз.

**Оценка полноты извлечения.** Полнота извлечения оценивалась на 4 концентрационных уровнях в 5 повторностях, с использованием образцов измельчённого зерна массой 5 г, в которые вносили определённые количества аналитических стандартов (в виде растворов в ацетоне или метаноле). К процедуре экстракции приступали спустя ~ 30 мин после внесения, для того чтобы дать возможность пестицидам абсорбироваться в матрицу.

**Условия измерений.** Идентификацию и количественное определение исследуемых веществ выполняли методами высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращённой фазе с тройным квадрупольным масс-детектором в режиме мониторинга множественных реакций (МРМ), а также капиллярной газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с масс-селективным детектором в режиме мониторинга выбранных ионов (SIM).

Использован газовый хроматограф Agilent 7890В, соединённый с масс-селективным детектором Agilent 5975. Капиллярная колонка HP-5ms длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, толщина плёнки сорбента 0,25 мкм (Agilent Technologies), использована для разделения при следующих условиях программирования температуры: 90 °С, выдержка 2 мин, нагрев со скоростью 10° в минуту до 185 °С, выдержка 2 мин, нагрев со скоростью 2° в минуту до 200 °С, выдержка 4 мин, нагрев со скоростью 5° в минуту до 250 °С, выдержка 11 мин, нагрев со скоростью 20° в минуту до 270 °С, выдержка 5 мин. В хроматограф вводили 1 мкл пробы без деления потока.

В качестве газа-носителя использован гелий с программируемым потоком в колонке: 1 мл/мин — с 1-й по 20-ю минуту; 0,8 мл/мин — с 20-й по 30-ю минуту; 1 мл/мин — с 30-й по 37-ю минуту; 1,8 мл/мин — с 37-й по 52-ю минуту. Хромато-масс-спектрометрию осуществляли в режиме ионизации электронным ударом (энергия электронов 70 эВ) при температуре ионного источника — 230 °С, квадруполя — 150 °С, переходной камеры — 280 °С. Сбор данных осуществляли с 8-й до 52-й минуты.

Система тандемной жидкостной масс-спектрометрии представлена жидкостным хроматографом Agilent Infinity 1290 с масс-спектрометрическим детектором Triple Quad 6460, источник ионизации — электростатическое распыление (электроспрей). Регистрировали дочерние положительные ионы после разрушения материнских ионов (регистрация «перехода») в режиме мониторинга множественных реакций.

Скорость сканирования: 200 мс, давление на распылителе: 35 psi, скорость осушающего газа 1 (азот): 10 л/мин, температура газа 1: 250 °С, скорость газа 2 (азот): 11 л/мин, температура газа 2: 340 °С, напряжение на капилляре 4500 В, напряжение в сопле (форсунке) 500 В, температура квадруполей (1 и 3): 100 °С. Для хроматографического разделения

<sup>3</sup> Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии, ФГИС «АРШИН» «Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений. Аттестованные методики (методы) измерений». (<https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/16>)



Таблица 1

Действующие вещества пестицидов, определяемые методом ВЭЖХ-МС/МС, химические классы, МДУ, показатели идентификации

Вещество	Химический класс	МДУ, мг/кг	Нижний предел определения, мг/кг	Масс-переходы, масса/заряд (m/z)		
				материнский ион	используемые для количественного расчёта	используемые для подтверждения
Ацетамиприд	Неоникотиноид	0,5	0,01	223,1	126,0	56,0
Диметоат	Фосфорорганическое соединение	0,05	0,01	230	125	198,8
Имидаклоприд	Неоникотиноид	0,1	0,01	256,1	175,1	209,0
Ипконазол	Триазол	0,02	0,01	332,4	70,2	125
Ипродион	Имидазол	2,0 (ячмень)	0,1	330	244,9	287,9
Карбендазим	Бензимидазол	0,5	0,01	192,1	160,1	132,1
Карбоксин	Оксатиинкарбоксамид	0,2	0,01	236,1	143	87,1
Клотианидин	Неоникотиноид	0,2	0,01	250,0	169,1	132,1
Крезоксим-метил	Стробилурин	0,1	0,01	314,2	116,0	222,0
Ометоат	Фосфорорганическое соединение	–	0,01	214	125	154,9
Пенконазол	Триазол	0,005	0,005	284,1	69,9	158,8
Пиракlostробин	Стробилурин	0,5	0,01	388,2	194,1	296,2
Прохлораз	Имидазол	2,0	0,01	376	308	265,9
Спироксамин	Морфолин	0,2	0,01	298,4	144,2	100,2
Тиабендазол	Бензимидазол	0,2	0,01	202,0	175,0	131,0
Тиаклоприд	Неоникотиноид	0,1	0,01	253,1	126,0	186,0
Тиаметоксам	Неоникотиноид	0,05	0,01	292,2	211,0	181,0
Трифлуксистробин	Стробилурин	0,5	0,01	409,1	186	145
Флорасулам	Триазолпиримидин	0,05	0,01	360	129	82,1
Флуксапироксад	Пиразол	0,5	0,01	382,1	362	342
Флуметсулам	Триазолпиримидин	1,0	0,01	326	129	109
Флуопирам	Бензамид	0,1	0,01	397	145	172,9
Эпоксиконазол	Триазол	0,2	0,01	330,1	121	101,1

использовали колонку ZORBAX Eclipse Plus C18 длиной 150 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, зернение 1,8 мкм (Agilent Technologies). Температура колонки: 45 °С, скорость потока элюента: 0,4 мл/мин, объём вводимой пробы: 2 мкл с промывкой иглы (3 с, метанол).

Режим элюирования градиентный: компонент А – 0,05% раствор формиата аммония + 0,01% муравьиной кислоты (по объёму) в воде; компонент В – раствор 0,01% муравьиной кислоты в метаноле: от 90% компонента А (0 мин, старт) до 35% компонента А (5 мин), 5% компонента А (6,5, до 8,5 мин), 90% компонента А (10 мин, финиш); пробег 13 мин, включая промывку колонки после анализа 3 мин.

## Результаты

Для исследования были выбраны сорок действующих веществ пестицидов (включая ряд метаболитов), относящихся к различным химическим группам (неоникотиноиды, триазолы, имидазолы, пиретроиды, фосфорорганические соединения, стробилурины и др.) (табл. 1, 2).

Калибровочные кривые были построены с использованием растворов аналитических стандартов, приготовленных

на растворителе, на пяти концентрационных уровнях. Формулы графиков зависимости площадей хроматографических пиков (S) искоемых веществ от их концентраций в растворах (C, мкг/см<sup>3</sup>) имели вид:  $S = K_1 \cdot C \pm K_0$  (коэффициенты корреляции более 0,99).

Эффект матрицы, выраженный в %, количественно оценивался по соотношению площадей пиков стандарта на матрице и стандарта, приготовленного на растворителе, согласно рекомендациям международного документа [22]. Показано, что эффект матрицы не превышал 20% для всех веществ.

Идентификацию осуществляли по временам удерживания, наличию характеристических ионов в масс-спектрах (метод ГХ-МС) и дочерних ионов (ВЭЖХ-МС/МС) и по соотношению величин площадей хроматографических пиков, отвечающих характеристическим ионам.

Для подбора условий детектирования (метод ВЭЖХ-МС/МС) проведена оптимизация для 23 действующих веществ, то есть сканирование в положительном и отрицательном режимах ионизации с использованием источника электростатического распыления. Для каждого аналита были получены несколько дочерних ионов, которые образовались

## Действующие вещества пестицидов, определяемые методом ГЖХ-МС, химические классы, МДУ, показатели идентификации

Вещество	Химический класс	МДУ, мг/кг	Нижний предел определения, мг/кг	Характеристические ионы, масса/заряд (m/z)		
				используемые для количественного расчёта	используемые для подтверждения	используемые для подтверждения
Диазинон	Фосфорорганическое соединение	0,1	0,01	179	137	152
Хлороталонил	Хлорнитрил	0,1	0,05	266	231	109
Мефеноксам	Фениламид	0,1	0,01	206	132	160
Малатион	Фосфорорганическое соединение	10	0,01	173	125	158
Ципродинил	Анилопиримидин	0,5	0,01	224	210	225
Фипронил	Фенилпиразол	0,005	0,005	367	213	255
Флутриафол	Триазол	0,05	0,02	123	164	219
Флудиоксонил	Триазол	0,05	0,02	248	127	182
Протиоконазол-дестио	Триазол	0,5	0,01	186	83	125
Фипронил-сульфон	Фенилпиразол	–	0,005	383	255	452
Ципроконазол	Триазол	0,05	0,02	222	125	139
Пропиконазол	Триазол	0,01	0,01	173	259	191
Тебуконазол	Триазол	0,2	0,1	125	250	163
Эпоксиконазол	Триазол	0,2	0,1	192	138	165
Бифентрин	Пиретроид	0,5	0,01	181	165	141
Лямбда-цигалотрин	Пиретроид	0,01	0,01	181	197	208
Альфа-циперметрин	Пиретроид	2,0	0,1	181	127	163
Эсфенвалерат	Пиретроид	0,1	0,05	125	167	181

после разрушения материнского иона, соединения идентифицировали по мониторингу множественных реакций (масс-переходам).

Метод газовой хромато-масс-спектрометрии использован для определения остаточных количеств 18 соединений. На первой стадии исследования для идентификации всего перечня веществ при совместном присутствии использовали режим полного сканирования (по полному ионному току) в диапазоне от 50 до 500 атомных единиц массы с автоматизированным библиотечным поиском «NIST».

Использованный «жесткий» режим ионизация электронным ударом даёт большое число фрагментарных ионов, которые однозначно характеризуют структуру молекулы, что удобно для идентификации веществ.

Зерно относится к группе продуктов с высоким содержанием белка, низким содержанием воды [22]. Реализация процедуры пробоподготовки QuEChERS применительно к продуктам с низким содержанием воды предполагает предварительное внесение в образец воды для достижения её содержания в матрице более 70% при соответствующем снижении массы пробы.

В направлении гармонизации с международными требованиями была поставлена задача создания методики многокомпонентного определения действующих веществ пестицидов, обеспечивающей по возможности нижний предел количественного определения на уровне 0,01 мг/кг [23]. Для отдельных веществ (пенконазол, фипронил) ввиду более низкой величины гигиенических нормативов нижний пре-

дел их количественного определения был снижен до уровня МДУ (0,005 мг/кг).

Структура ряда веществ и технические возможности оборудования не позволили получить надёжный результат на уровне 0,01 мг/кг. В этом случае при обосновании требований к нижнему пределу определения опирались на установленные величины МДУ для данных веществ в зерне: флудиоксонил, флутриафол, ципроконазол – 0,05 мг/кг; хлороталонил, эсфенвалерат – 0,1 мг/кг; тебуконазол, эпоксиконазол – 0,2 мг/кг; альфа-циперметрин, ипродион – 2 мг/кг (см. табл. 1, 2).

В спектр определяемых веществ включены метаболиты, необходимые в аналитическом контроле, такие как протиоконазол-дестио, ометоат, фипронил-сульфон. Содержание метаболитов в образцах выражали в эквиваленте действующих веществ, вводя в формулу расчёта коэффициент, равный соотношению молекулярных масс: 1,06 (ометоат в эквиваленте диметоата), 0,96 (фипронил-сульфон в эквиваленте фипронила), 1,1 (протиоконазол-дестио в эквиваленте протиоконазола).

## Обсуждение

При выделении спектра веществ для целей аналитического контроля проанализирован Каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешённых к применению на территории Российской Федерации [7]. При всём многообразии действующих веществ пестицидов внимание авторов в первую

очередь было обращено на те вещества, на основе которых создано наибольшее количество препаратов, активно применяющихся в сельском хозяйстве на всей территории Российской Федерации. Рассматривались вещества, включённые в ГН 1.2.3539-18 и имеющие установленные максимально допустимые уровни (МДУ/ВМДУ) в зерне хлебных злаков.

Применение методики пробоподготовки QuEChERS обусловило исключение из анализа действующих веществ, которые по своей структуре, физико-химическим свойствам, способности к метаболитической деградации и образованию множественных метаболитов не могут быть проанализированы с применением данной технологии.

Следует отметить, что оригинальный метод QuEChERS [14] отличается незначительно от основной процедуры, применяемой сегодня к матрицам с низким (2–20%) или высоким (> 20%) содержанием жира. Основное отличие заключается в стадии очистки, поскольку даже небольшое количество жира также соэкстрагируется из матрицы и может оказывать влияние на дальнейший хроматографический анализ [24, 25].

Разработанный авторами ранее метод многоостаточного определения пестицидов различной химической природы в продукции растениеводства включал измерения уровней 27 действующих веществ пестицидов в овощах и фруктах, то есть продуктах с содержанием воды более 70%, относящихся к группе продуктов с высоким содержанием воды. По процедуре пробоподготовки QuEChERS образцы подвергали экстракции ацетонитрилом, содержащим 1% уксусной кислоты (10 г измельченного образца, 10 мл растворителя)<sup>4</sup>.

Аналогичный подход был применён и к группе продуктов с высоким содержанием белка, низким содержанием воды и жира, в которую в том числе входит зерно хлебных злаков. Масса образцов зерна была уменьшена до 5 г с внесением на стадии экстракции воды, количество которой в 2 раза превышало массу пробы (10 мл). Вещества из анализируемых проб экстрагировали ацетонитрилом с использованием смеси солей, содержащей, кроме сульфата магния и хлорида натрия, компоненты цитратного буфера, поддерживающего рН в диапазоне 5–5,5 [20, 26]. Применение цитратного буфера на стадии экстракции способствовало удовлетворительному разделению фаз при центрифугировании, способствуя тем самым повышению полноты извлечения веществ из данной матрицы. Мы отказались от использования для поддержания рН буферов, содержащих уксусную кислоту или ацетат натрия [17–19, 21], что связано с имеющейся информацией о снижении ёмкости сорбента на основе первично-вторичного амина, используемого в составе сорбентов для ТФЭ, для удерживания коэкстрактивных жирных кислот в присутствии уксусной кислоты [10].

Использованная смесь сорбентов для твердофазной экстракции включала помимо первично-вторичного амина окстадецилсилан (С18). Неполярный сорбент С18 успешно удерживает мешающие коэкстрактивные вещества, в том числе липиды, из ацетонитрильного экстракта. При этом целым рядом опубликованных работ продемонстрировано, что его применение не оказывает заметного негативного влияния на полноту извлечения, но помогает получить более чистый экстракт [14, 18, 25]. При анализе зерна кукурузы жидкостное перераспределение с ацетонитрилом и водой было дополнено низкотемпературным вымораживанием жиров как дополнительной ступенью очистки экстрактов этих образцов. Данный подход, названный «ступенью вымораживания», прост, дешев и не требует использования дополнительных растворителей и материалов, повышает

эффективность процедуры пробоподготовки [14, 20]. При использовании только дисперсионной ТФЭ (без вымораживания) отмечены мешающее влияние из-за некоторой интерференции пиков ряда пестицидов с компонентами матрицы, а также высокий химический шум. После ступени вымораживания и последующей дисперсионной ТФЭ пестициды хорошо идентифицировались и определялись количественно.

Вместе с тем имеются данные [26], утверждающие, что стадия вымораживания излишня, когда имеет место процедура дисперсионной ТФЭ с сорбентом на основе первично-вторичного амина и С18, поскольку количество коэкстрактивных веществ, полученных 2-ступенчатым методом (распределение в жидкость + дисперсионная ТФЭ) эквивалентно таковому, полученному с включением вымораживания, что согласуется с результатами исследований образцов зерна пшеницы, ячменя и риса, но спорно для зерна кукурузы.

Разработанная методика апробирована при оценке контаминации зерновой продукции остаточными количествами пестицидов. Внимание было обращено на пшеницу, кукурузу и рис, именно те зерновые, которые оставляют более 88% всего мирового производства зерна [27]. Выполнено определение действующих веществ пестицидов (и их метаболитов) в зерне пшеницы, ячменя, кукурузы, произведённых в различных регионах Российской Федерации (Московская, Ленинградская, Орловская, Омская, Воронежская, Рязанская, Ростовская, Волгоградская области, Краснодарский край), а также в зерне риса (страна происхождения Вьетнам).

Во всех исследуемых пробах остаточные количества действующих веществ пестицидов в зерне пшеницы, ячменя, кукурузы не идентифицированы, то есть менее нижнего предела количественного определения.

Из ассортимента определяемых пестицидов в отдельных образцах риса идентифицированы остаточные количества тебуконазола (0,53 мг/кг) и флудиоксонила (0,013 мг/кг), которые не превышали величины максимально допустимых уровней (МДУ), включённых в ГН 1.2.3-3539-18, что свидетельствует о безопасности продукции.

Разработанный по результатам экспериментальных исследований метод многокомпонентного определения остаточных количеств пестицидов различных химических классов при совместном присутствии в зерне хлебных злаков хроматографическими методами представлен в виде методического обеспечения для практического использования при мониторинге качества и химической безопасности пищевой продукции, дополняет базу методов лабораторных испытаний в системе социально-гигиенического мониторинга, будет способствовать обеспечению продовольственной безопасности страны.

## Заключение

Аналитический метод многокомпонентного определения, основанный на применении высокоэффективной жидкостной и газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, создан и валидирован для измерения уровней остаточных количеств 40 действующих веществ пестицидов (ряда метаболитов) в зерне хлебных злаков, относящихся к продуктам с высоким содержанием белка, низким содержанием воды. Использованный способ пробоподготовки образцов обеспечил хорошую линейность и воспроизводимость в изучаемом диапазоне концентраций. Методика QuEChERS с включением цитратного буфера является наиболее подходящей с точки зрения обеспечения адекватного нижнего предела количественного измерения (менее установленных величин МДУ) для всех 40 исследованных действующих веществ пестицидов (в отдельных случаях – их метаболитов).

<sup>4</sup> МУК 4.1.3351-16. Многоостаточное определение пестицидов различной химической природы в продукции растениеводства. Методические указания.

## Литература

(п.п. 2, 4, 8–23, 25–27 см. References)

1. Мельников Н.Н. *Пестициды. Химия, технология и применение*. М.: Химия; 1987.
3. Антонович Е.А., Седокур Л.К. *Качество продуктов питания в условиях химизации сельского хозяйства. Справочник*. Киев: Урожай; 1990.
5. Ракитский В.Н. Токсикология пестицидов. *Токсикологический вестник*. 2010; (3): 21–3.
6. Тутельян В.А., Хотимченко С.А. Качество и безопасность пищевой продукции: современные аспекты. В кн.: *Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Гигиена, токсикология, профпатология: традиции и современность»*. Мытищи; 2016: 242–8.
7. Справочник пестицидов и агрохимикатов, разрешённых к применению на территории Российской Федерации. М.: Листерра; 2020.
24. Андоралов А.М., Кузнецов С.В., Афонин М.Б. Матричный эффект при анализе остаточных количеств пестицидов во фруктах и овощах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим детектированием. *Научно-технический вестник Брянского государственного университета*. 2017; (1): 9–17.

## References

1. Mel'nikov N.N. *Pesticides. Chemistry, Technology and Application [Khimiya, tekhnologiya i primeneniye]*. Moscow: Khimiya; 1987. (in Russian)
2. Pimentel D. *Environmental aspects of pest management, chemistry and world supplies*. In: Shemilt L.W., ed. *Chemistry and World Food Supplies: The New Frontiers, Chemarawn II*. Oxford: Pergamon Press; 1983: 185–201.
3. Antonovich E.A., Sedokur L.K. *The Quality of Food in the Context of the Chemicalization of Agriculture. Handbook [Kachestvo produktov pitaniya v usloviyakh khimizatsii sel'skogo khozyaystva. Spravochnik]*. Kiev: Urozhay; 1990. (in Russian)
4. Rodenburg J., Riches C.R., Kayeke J.M. Addressing current and future problems of parasitic weeds in rice. *Crop Protection*. 2009; 29(3): 210–21. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.10.015>
5. Rakitskiy V.N. Toxicology of pesticides. *Toksikologicheskii vestnik*. 2010; (3): 21–3. (in Russian)
6. Tutel'yan V.A., Khotimchenko S.A. Quality and safety of food products: modern aspects. In: *Materials of the All-Russian Scientific-Practical Conference with International Participation «Hygiene, Toxicology, Occupational Pathology: Traditions and Modernity» [Materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem «Gigiena, toksikologiya, profpatologiya: traditsii i sovremennost'»]*. Mytishchi; 2016: 242–8. (in Russian)
7. Handbook of pesticides and agrochemicals approved for use in the Russian Federation. Moscow: Listerra; 2020. (in Russian)
8. Lehotay S.J. QuEChERS sample preparation approach for mass spectrometric analysis of pesticide residues in foods. *Methods Mol. Biol.* 2011; 747: 65–91. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-136-9\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-136-9_4)
9. Bruzzoniti M.C., Checchini L., De Carlo R.M., Orlandini S., Rivoira L., Del Bubba M. QuEChERS sample preparation for the determination of pesticides and other organic residues in environmental matrices: a critical review. *Anal. Bioanal. Chem.* 2014; 406(17): 4089–116. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7798-4>
10. Mastovska K., Dorweiler K.J., Lehotay S.J., Wegfsheid J.S., Szpylka K.A. Pesticide multiresidue analysis in cereal grains using modified QuEChERS method combined with automated direct sample introduction GC-TOFMS and UPLC-MS/MS techniques. *J. Agric. Food Chem.* 2010; 58(10): 5959–72. <https://doi.org/10.1021/jf9029892>
11. He Z., Wang L., Peng Y., Luo M., Wang W., Liu X. Multiresidue analysis of over 200 pesticides in cereals using a QuEChERS and gas chromatography-tandem mass spectrometry-based method. *Food Chem.* 2015; 169: 372–80. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.102>
12. Balinova A., Mladenova R., Shtereva D. Solid phase extraction on sorbents of different retention mechanisms followed by determination by gas chromatography mass spectrometric and gas chromatography electron capture detection of pesticide residues in crops. *J. Chromatogr. A.* 2007; 1150(1–2): 136–44. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.02.002>
13. Boccacci-Mariani M., D'Aiuto V., Giannetti V. Multiresidue method for the determination of organophosphorus pesticides in cereal matrixes. *J. AOAC Int.* 2010; 93(3): 999–1006. <https://doi.org/10.1093/jaoac/93.3.999>
14. Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher 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(2): 412–31. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>
15. Gonzalez-Curbelo M.A., Herrera-Herrera A.V., Ravelo-Perez L.V., Hernandez-Borges J. Sample-preparation methods for pesticide-residue analysis in cereals and derivatives. *Trends Anal. Chem.* 2012; 38: 32–51. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.04.010>
16. Mondal R., Kole R.K., Bhattacharya A. Validation of multiresidue method for analysis of 31 pesticides in rice using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J. AOAC Int.* 2017; 100(4): 1094–101. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.16-0377>
17. Nguyen T.D., Han E.M., Seo M.S., Kim S.R., Yun M.Y., Lee D.M., et al. A multi-residue method for the determination of 203 pesticides in rice paddies using gas chromatography/mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 2008; 619(1): 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.03.031>
18. Leandro C.C., Hancock P., Fussell R.J., Keely B.J. Comparison of ultra-performance liquid chromatography and high-performance liquid chromatography for the determination of priority pesticides in baby foods by tandem quadrupole mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 2006; 1103(1): 94–101. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.10.077>
19. Nguen T.D., Lee B.S., Lee B.R., Lee D.M., Lee G.H. A multiresidue method for the determination of 109 pesticides in rice using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) sample preparation method and gas chromatography/mass spectrometry with temperature control and vacuum concentration. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2007; 21(18): 3115–22. <https://doi.org/10.1002/rcm.3199>
20. Paya' P., Anastassiades M., Mack D., Sigalova I., Tsdelen B., Oliva J., et al. Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 2007; 389(6): 1697–714. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1610-7>
21. Mol H.G., Plaza-Bolaños P., Zomer P., de Rijk T.C., Stolker A.A., Mulder P.P. Toward a generic extraction method for simultaneous determination of pesticides, mycotoxins, plant toxins, and veterinary drugs in feed and food matrices. *Anal. Chem.* 2008; 80(24): 9450–9. <https://doi.org/10.1021/ac801557f>
22. EC № SANTE/12682/2019. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Imp. 2020-01-01; 2020.
23. SANCO/825/00. European Commission: Guidance Document on Pesticide Residue Analytical Methods. Imp. 2010-11-16; 2010.
24. Andoralov A.M., Kuznetsov S.V., Afonin M.B. Matrix effect in the analysis of residual amounts of pesticides in fruits and vegetables by high performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometric detection. *Nauchno-tehnicheskiy vestnik Bryanskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2017; (1): 9–17. (in Russian)
25. Takatori S., Okihashi M., Okamoto Y., Kitagawa Y., Kakimoto S., Murata H., et al. A rapid and easy multiresidue method for the determination of pesticide residues in vegetables, fruits, and cereals using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J. AOAC Int.* 2008; 91(4): 871–83. <https://doi.org/10.5772/14008>
26. Koesukwiwat U., Lehotay S.J., Mastovska K., Dorweller K.J., Leepipatiboon N. Extension of the QuEChERS method for pesticide residues in cereals to flaxseeds, peanuts, and doughs. *J. Agric. Food Chem.* 2010; 58(10): 5950–8. <https://doi.org/10.1021/jf902988b>
27. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at: <http://faostat.fao.org>