



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

Остаточные количества пестицидов в цитрусовых: аналитический контроль

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи, Московская область, Россия

Введение. Плоды цитрусовых культур благодаря их полезным свойствам и витаминной наполненности занимают существенное место в фактическом питании населения, в том числе детей и подростков, но в силу природно-климатических условий не могут возделываться в нашей стране и относятся к категории импортируемой продукции, что обосновывает важность контроля их безопасности.

Цель работы — разработка метода для одновременного многокомпонентного определения остаточных количеств пестицидов и их метаболитов в плодах цитрусовых культур.

Материалы и методы. Для идентификации и количественного определения при совместном присутствии действующих веществ пестицидов, относящихся к различным химическим классам (аминопиримидины, имидазолы, карбаматы, стробилурины, триазолы, ФОС и др.), использованы методы высокоскоростной жидкостной хроматографии с тройным квадрупольным масс-детектором (ВЭЖХ-МС/МС) в режиме мониторинга множественных реакций (MRM) и газожидкостной хроматографии с масс-селективным детектором (ГЖХ-МС) в режиме мониторинга выбранных ионов (SIM). Пробоподготовку выполняли согласно методике QuEChERS, основанной на извлечении веществ из гомогенизированного образца органическим растворителем в присутствии солей, содержащих цитратный буфер, с последующей очисткой аликвоты экстракта дисперсионной твердофазной экстракцией.

Результаты. Созданный мультиметод определения остаточных количеств широкого спектра соединений (50 наименований действующих веществ пестицидов и их токсичных метаболитов) в цитрусовых использован для исследования плодов цитрусовых культур (лимоны, грейпфруты, апельсины, мандарины), импортированных из Египта, Турции и Абхазии, приобретенных на потребительском рынке. Идентифицированные уровни действующих веществ пестицидов не превышали установленных величин МДУ.

Заключение. Современное развитие аналитической химии пестицидов, использование тандема газовой и жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием позволили реализовать групповой метод количественного измерения действующих веществ пестицидов и их токсичных метаболитов в плодах цитрусовых культур, направленный на выявление содержания их остаточных количеств в исследуемой продукции.

Ключевые слова: пестициды; QuEChERS; плоды цитрусовых; аналитический контроль остаточных количеств; ГЖХ-МС; ВЭЖХ-МС/МС

Для цитирования: Ракитский В.Н., Федорова Н.Е., Гречина М.С., Егорченкова О.Е., Степанова Н.А. Остаточные количества пестицидов в цитрусовых: аналитический контроль. *Гигиена и санитария*. 2021; 100 (5): 476-481. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-5-476-481>

Для корреспонденции: Федорова Наталья Евгеньевна, доктор биол. наук, зав. отделом аналитических методов контроля ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи. E-mail: analyt1@yandex.ru

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

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

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

Поступила 04.03.2021 / Принята к печати 18.05.2021 / Опубликовано 15.06.2021

Valery N. Rakitskii, Nataliia E. Fedorova, Marina S. Grechina, Olga E. Egorchenkova,
Natalya A. Stepanova

Residual amounts of pesticides in citrus fruits: analytical control

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

Introduction. Thanks to possessing beneficial properties and vitamin content, citrus fruits occupy a prominent place in the ubiquitous nutrition of all ages due to various crops. On the other hand, due to climatic conditions, they cannot be cultivated in our country and are classified as imported products, which justifies the importance of controlling their safety.

Purpose of the work. The creation of a multicomponent method for determining the residual amounts of pesticides and their metabolites in citrus fruits.

Materials and methods. HPLC with triple quadrupole mass detector in multiple reaction monitoring (MRM) mode and capillary gas-liquid chromatography with mass selective detector (GC-MS) in selected ion monitoring mode (SIM) together were used to perform the identification and quantitative determination of the active substances of pesticides of various classes (amino pyrimidines, imidazoles, carbamates, strobilurins, triazoles, organophosphorus compounds, etc.) As a sample preparation method, there was used the QuEChERS technology, based on the extraction of pesticides with an organic solvent from a homogenized sample in the presence of salts containing citrate buffer and the purification of the extracts by dispersive solid-phase extraction.

Results. To control the safety of citrus fruits (lemons, grapefruits, oranges, tangerines) imported from Egypt, Turkey and Abkhazia, purchased on the food market, a multi-method was used for determining the residual amounts of a wide range of pesticide compounds (50 names of active ingredients of pesticides and their toxic metabolites) in citrus fruits. The identified levels of active pesticide ingredients did not exceed the established MRLs.

Conclusion. The modern development of the analytical chemistry of pesticides, the use of a tandem of gas and liquid chromatography with mass spectrometric detection made it possible to implement a group method for the quantitative determination of the active substances of pesticides and their toxic metabolites in citrus fruits. Modern development makes it possible to detect the contamination of their residual amounts in the processed products.

Keywords: pesticides; QuEChERS; citrus; analytical control of residues; GC-MS; HPLC-MS/MS

Original article

For citation: Rakitskii V.N., Fedorova N.E., Grechina M.S., Egorchenkova O.E., Stepanova N.A. Residual amounts of pesticides in citrus fruits: analytical control. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2021; 100 (5): 476–481. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-5-476-481> (In Russ.)

For correspondence: Nataliia E. Fedorova, MD, Ph.D., DSci., Head of the Department of an analytical control methods Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, 141014, Russian Federation. e-mail: analyt1@yandex.ru

Information about 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>; Stepanova N.A., <https://orcid.org/0000-0001-7269-3481>; Grechina M.S., <https://orcid.org/0000-0003-3324-5090>

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.

Contribution of the authors: *Rakitskii V.N.* – the concept and design of the study, approval of the final version of the article; *Fedorova N.E.* – the concept and design of the study, writing a text, editing, approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article; *Grechina M.S.* – collection and processing of material, statistical analysis, collection of literature data, writing a text; *Egorchenkova O.E.* – collection and processing of material, statistical analysis; *Stepanova N.A.* – statistical analysis.

Received: March 4, 2021 / Accepted: May 18, 2021 / Published: June 15, 2021

Введение

Многообразие цитрусовых, их полезные свойства и витаминная наполненность напрямую связаны с тем, что плоды данных культур занимают существенное место в фактическом питании населения, в том числе детей и подростков. Однако природно-климатические условия Российской Федерации не позволяют реализовать возделывание культур в нашей стране, что приводит к необходимости их импорта. При этом использование химических средств защиты растений на плодовых культурах необходимо не только для борьбы с вредителями и болезнями, потенциально снижающими урожайность при возделывании, но также для сохранения качества самих плодов при их доставке до потребителя [1, 2].

Россия является крупнейшим в мире покупателем цитрусовых на мировом рынке. За 8 мес 2020 г. импорт мандаринов и клементинов, апельсинов, лаймов, лимонов и грейпфрутов составил около 900 тыс. тонн, большая часть продукции шла из Турции, Египта и ЮАР [3].

Учитывая многообразие и географическое происхождение цитрусовых, плоды данных культур, имеющие промышленное и торговое значение, условно делят на ряд групп: апельсины, лимоны и лаймы (лимоны, лаймы, лаймкваты), грейпфруты и пампельмусы (грейпфруты, помело, пампельмус, свити, чирония), мандарины и/или «изи пилер» (от англ. «Easyreeler» – «легко очищающиеся»); мандарины, танжерини, сатсумы, клементины, минеоллы, тангоры, вилкинги, муркотты и т. д.) и кумкват [4].

Плод цитрусовых (гесперидий) с ботанической точки зрения представляет собой ягоду, которая состоит из кожуры, мякоти, сердцевини и семян. Кожура плодов представлена двумя слоями. Внешний окрашенный слой (флаведо) – кожистый, имеет желёзки, содержащие эфирные масла, внутренний слой (альbedo) состоит из белой волокнистой рыхлой ткани. В зависимости от вида цитрусовых массовая доля кожуры может значительно колебаться: от 24% (мандарины) до 60–65% (отдельные сорта помело) [4].

Большое содержание в плодах цитрусовых витамина С, гликозидов, обладающих Р-витаминной активностью, пектинов, эфирных масел и других физиологически активных веществ определяет их пищевую ценность. Отмечаются различия в химическом составе мякоти и кожуры и неравномерность распределения в них отдельных веществ. Массовые доли витамина С, пектиновых веществ и эфирных масел выше в кожуре, органических кислот, гликозидов и сахаров – в мякоти (исключение составляют лимоны). Различия в химическом составе цитрусовых зависят от регионов происхождения, а также сортов [5–8].

Перечень пестицидов, разрешённых для применения на территории Российской Федерации, включает более 35 препаратов, рекомендованных для цитрусовых культур [9]. В соответствии с СаПиН-1.2.3685-21* максимально допустимые

* Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания: СаПиН-1.2.3685-21; Утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 2 от 28.01.2021 г.

уровни установлены для более 90 активных ингредиентов (в том числе МДУ для импортируемой продукции).

Поскольку цитрусовые – это в основном импортируемые фрукты, существует большая вероятность наличия в плодах и соке остаточных количеств пестицидов, которые не зарегистрированы на территории Российской Федерации и не имеют установленных гигиенических нормативов. Согласно докладу Европейской комиссии, ассортимент обнаруженных пестицидов в продукции различается и напрямую зависит от того, из какой страны были привезены те или иные фрукты, от используемых пестицидов и культуры их применения в странах-экспортёрах [10].

Учитывая все полезные свойства и витаминную наполненность цитрусовых, их значимую роль в фактическом питании населения, несомненно актуальной является оценка безопасности данной продукции с точки зрения содержания остаточных количеств пестицидов, что обосновывает потребность в результативных методах, дающих надёжные результаты при аналитическом контроле продукции, выращиваемой в РФ или импортируемой из других стран.

Наиболее рациональным методом очистки и извлечения действующих веществ пестицидов из образцов фруктов и овощей является QuEChERS («быстрый, лёгкий, дешёвый, надёжный и безопасный») [11]. Рассматриваемый аналитический подход, получивший международное признание при многокомпонентном анализе, является достаточно гибким, служит определённым шаблоном и подвергается различным модификациям в зависимости от свойств аналитов, состава матрицы, а также оборудования, доступного аналитическим лабораториям [12].

Известно, что цитрусовые являются сложными матрицами для анализа остатков пестицидов. Кислотность у них выше, чем у других фруктов, кожура содержит большое количество пектинов и сложных ароматических соединений, которые способны привести к высоким матричным эффектам [13], что осложняет процедуру определения.

Цель исследования – создание мультиметода определения остаточных количеств пестицидов широкого спектра химических классов в цитрусовых с использованием в качестве основы для пробоподготовки технологии QuEChERS с последующей качественной и количественной идентификацией методами жидкостной и газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС и ГЖХ-МС).

Материалы и методы

В исследовании использованы образцы аналитических стандартов действующих веществ 50 пестицидов (включая их токсичные метаболиты) с содержанием основных компонентов более 95%. Для их количественного определения первоначально готовили индивидуальные стандартные растворы (концентрация 100 мкг/мл), последовательным разбавлением и смешением которых получали рабочие растворы для калибровки, содержащие смеси веществ в диапазоне концентраций 0,005–0,5 мкг/мл (в зависимости от

действующего вещества). Применяемые растворители и реактивы включали ацетонитрил, метанол, ацетон, деионизированную воду, муравьиную и уксусную кислоты высокой степени очистки (для ВЭЖХ-МС).

Подготовку проб к анализу выполняли с использованием экстракционных наборов VetexQ (компания «Интерлаб»), ориентированных на анализ остаточных количеств пестицидов в образцах фруктов и овощей, содержащих жиры и парафины, зерна, комбикормов при контроле продуктов питания, которые включают в себя: пробирки полипропиленовые центрифужные с крышками на 50 см³, набор солей для экстракции с цитратным буфером, пробирки полипропиленовые центрифужные с крышками на 15 см³ с насыпными сорбентами на основе первичного-вторичного амина (PSA), сульфата магния и дисперсию сорбента на основе октадецилсилана, керамические гомогенизаторы. Для фильтрации проб использованы шприцевые мембранные политетрафторэтиленовые фильтры с размером пор 0,20 мкм.

Образцы плодов цитрусовых для исследования, включающие импортированные мандарины, апельсины, лимоны, лаймы, грейпфруты, были приобретены в г. Москве на потребительском рынке. Выборка «условно чистых» образцов основывалась на результатах скрининговых исследований на содержание интересующих аналитов с использованием методов жидкостной и газо-жидкостной хромато-масс-спектрометрии.

Перед анализом доставленные в лабораторию пробы цитрусовых замораживали, а затем в замороженном состоянии тщательно гомогенизировали с помощью куттера Robot Coupe 10 (Франция) в присутствии сухого льда и хранили до анализа при температуре ниже –18 °С.

Процедура пробоподготовки включала этапы экстракции, центрифугирования и очистки. На этапе экстракции навеску образца (10 г) помещали в полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 мл, вносили 10 мл ацетонитрила, смесь солей для экстракции на основе цитратного буфера (смесь магния сульфата, натрия хлорида, натрия лимоннокислого двух- и трёхзамещённого), перемешивали в присутствии керамического гомогенизатора, центрифугировали в течение 5 мин со скоростью 4000 об./мин. Аликвоту надосадочной жидкости (~ 6 мл) переносили в центрифужную полипропиленовую пробирку на 15 мл, содержащую сорбенты, для очистки экстракта, встряхивали вручную 1 мин и центрифугировали 5 мин при скорости 4000 об./мин для разделения фаз. Для действующего вещества дитианона на стадии экстракции в образец вносили 0,1 мл уксусной кислоты (рН ~ 2,0) и не проводили стадию сорбционной очистки.

Для аналитических измерений использован газовый хроматограф Agilent 7890В с масс-селективным детектором Agilent 5975, капиллярная кварцевая колонка HP-5ms (длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина плёнки сорбента 0,25 мкм) фирмы Agilent Technologies. В качестве газа-носителя применяли гелий газообразный, поток газа в колонке: 1 см³/мин, давление – 68,6 кПа; средняя линейная скорость – 37,132 см/с. Температура испарителя – 270 °С. Температура термостага колонки программированная от 90 до 260 °С. В хроматограф вводили 1 мкл пробы без деления потока. Для надёжной идентификации веществ и количественных расчётов использовали три выбранных иона.

По разделу жидкостной хроматографии аналитические измерения выполняли на жидкостном хроматографе Agilent Infinity 1290 с масс-спектрометрическим детектором Triple Quad 6460, источник ионизации – электростатическое распыление (электроспрей), хроматографическая колонка ZORBAX Eclipse Plus C18 (длина 150 мм, внутренний диаметр 2,1 мм, зернение 1,8 мкм) фирмы Agilent Technologies, изотермический режим колонки (45 °С), скорость потока элюента 0,4 см³/мин, объём вводимой пробы 2 мкл с промывочной иглы (3 с, метанол).

Элюирование выполняли в градиентном режиме компонентов А и Б: компонент А – 0,05% (масса/объём) раствор

формиата аммония + 0,01% муравьиной кислоты (по объёму) в воде; компонент Б – раствор 0,01% муравьиной кислоты в метаноле.

Результаты

Для разработки мультиметода определения остаточных количеств пестицидов в цитрусовых были определены 50 действующих веществ пестицидов (включая три токсичных метаболита) различных классов (аминопиримидины, имидазолы, карбаматы, неоникотиноиды, стробилурины, триазолы, ФОС и др.) и групп (фунгициды – 21 наименование, инсектициды и акарициды – 26 наименований, гербициды – 3 наименования), которые систематизированы по химическим классам и группам пестицидов в таблице.

Измерения выполняли методом внешнего стандарта на основе построения градуировочных характеристик, выражающих зависимость площадей пиков (S) от концентраций аналитов (С, мкг/мл) в 5 растворах для градуировки. Зависимость выражали в виде: $C = K1 \cdot S \pm K0$ (коэффициенты корреляции более 0,99).

Для количественной оценки эффекта матрицы использовали соотношение площадей пиков стандарта на матрице и стандарта, приготовленного на растворителе, выраженное в %. Для всех веществ эффект матрицы не превышал 20%, что соответствует рекомендациям международного документа [14].

Минимизация взаимного мешающего влияния анализируемых веществ обеспечена их идентификацией по временам удерживания, наличию характеристических ионов в масс-спектрах (метод ГЖХ-МС) и масс-переходов (ВЭЖХ-МС/МС), а также соотношением величин площадей хроматографических пиков, отвечающих характеристическим ионам.

Математико-статистическую обработку данных (расчёт среднего значения и относительного стандартного отклонения) проводили общепринятыми статистическими методами с применением стандартной программы Microsoft Office Excel.

Количественный расчёт содержания действующих веществ в пробе выполнен по величине площади пика, соответствующего времени выхода аналита, с использованием градуировочной характеристики, автоматически построенной методом регрессионного анализа на основе данных хроматографирования серии градуировочных растворов аналитических стандартов веществ.

Режим работы масс-спектрометра (метод ВЭЖХ-МС/МС) определён по результатам оптимизации для 25 действующих веществ, направленной на выбор ионов для количественного расчёта и подтверждения идентификации на основе сканирования возможных масс-переходов в положительном и отрицательном режиме ионизации с использованием источника электростатического распыления (электроспрей).

Метод газовой хромато-масс-спектрометрии ориентирован на определение 34 соединений, 9 из которых также анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС. Для идентификации всего перечня веществ при совместном присутствии первоначально было выполнено сканирование (по полному ионному току) в диапазоне от 50 до 500 атомных единиц массы с автоматизированным библиотечным поиском «NIST». Режим ионизации – электронный удар (энергия электронов 70 эВ), температура ионного источника – 230 °С, квадруполя – 150 °С, переходной камеры – 280 °С.

Согласно Руководящему документу [14], цитрусовые относятся ко второй группе культур, их особенностью является высокое содержание кислоты и воды. Поэтому в полной мере процедуру пробоподготовки QuEChERS можно перенести на пробы исследуемых продуктов, применяя на стадии экстракции образцов буфер для стабилизации рН [15]. В ряде литературных источников [16–18] отмечено, что при анализе фруктов с повышенной кислотностью рационально использование солей для экстракции с цитратным или ацетатным буфером с добавлением от 0,6 до 1 мл 5Н раствора гидроксида натрия. При разработке методики нами было

Original article

Группы и классы действующих веществ пестицидов

Химический класс	Действующее вещество	Группа пестицидов
Неоникотиноиды	Имидаклоприд Клотианидин Тиаметоксам	Инсектициды и акарициды (метаболиты)
Пиретроиды	Альфа-циперметрин Бифентрин Дельтаметрин	Инсектициды и акарициды
Триазолы	Дифеноконазол Пропиконазол Тебуконазол Триадименол Триадимефон Флудиоксонил Эпоксиконазол	Фунгициды (метаболиты)
Фосфорорганические соединения (ФОС)	Диазинон Диметоат Ометоат Малатион Пиримифос-метил Фенитроотион Фозалон Фосмет	Инсектициды и акарициды (метаболиты)
Стробилурины	Азоксистробин Крезоксим-метил Пираксистробин Трифлостробин	Фунгициды
Фенилпиразолы	Фипронил Фипронил-сульфон	Инсектициды и акарициды (метаболиты)
Бензимидазолы	Карбендазим Тиабендазол	Фунгициды
Имидазолы	Имазалил Прохлораз	Фунгициды
Карбаматы	Карбосульфам Карбофуран 3-кето-карбофуран Метомил	Инсектициды и акарициды (метаболиты)
Карбоксамиды	Гекситиазокс Пидифлуметофен	Акарицид Фунгицид
Ингибиторы синтеза хитина (ИСХ)	Дифлубензурон	Инсектицид и акарицид
Фениламины	Мефеноксам (металоксил, металоксил М)	Фунгициды
Триазиноны	Метрибузин	Гербицид
Пиридазины	Пиридабен	Инсектицид и акарицид
Хлорнитрилы	Хлороталонил	Фунгициды
Анилопириимидины (Пиримидинамины)	Пириметанил Ципродинил	Фунгициды
Динитроанилины	Трифлуралин	Гербицид
Ювеноиды	Пирипроксифен	Инсектицид
Арилоксифеноксипропионаты	Цигалофоп-бутил	Гербицид
Тетразины	Клофентезин	Акарицид
Рианоиды	Хлорантранилипрол	Инсектицид
Хиноны	Дитианон	Фунгицид

Groups and classes of active substances of pesticide

Chemical class	Active substance	Pesticide group
Neonicotinoides	Imidacloprid Clothianidin Thiamethoxam	Insecticides and Acaricides (metabolites)
Pyrethroides	Alpha-cypermethrin Bifenthrin Deltamethrin	Insecticides and Acaricides
Triazoles	Difenoconazole Propiconazole Tebuconazole Triadimenol Triadimefon Fludioxonil Epoconazole	Fungicides (metabolites)
Organophosphorus	Diazinon Dimethoate Omethoate Malathion Pirimiphos-methyl Fenitrothion Fozalon Fosmet	Insecticides and Acaricides (metabolites)
Strobilurines	Azoxystrobin Kresoxim-methyl Pyraclostrobin Trifloxystrobin	Fungicides
Phenylpyrazoles	Fipronil Fipronil-sulfone	Insecticides and Acaricides (metabolites)
Benzimidazoles	Carbendazim Thiabendazole	Fungicides
Imidazoles	Imazalil Prochloraz	Fungicides
Carbamates	Carbosulfan Carbofuran 3-keto-carbofuran Methomyl	Insecticides and Acaricides (metabolites)
Carboxamides	Hexythiazox Pidiflumetofen	Acaricid Fungicid
Chitin synthesis inhibitors	Diffubenzuron	Insecticid and Acaricid
Phenylamides	Mefenoxam (metalaxyl, metalaxyl-M)	Fungicides
Triazinones	Metribuzin	Herbicide
Pyridazinones	Pyridaben	Insecticid and Acaricid
Chloronitriles	Chlorothalonil	Fungicides
Anilinoypyrimidines	Pyrimethanil Cyprodinil	Fungicides
Dinitroanilines	Trifluralin	Herbicide
Juvenile hormone mimic	Pyriproxyfen	Insecticid
Aryloxyphenoxypropionates	Cygalofop-butyl	Herbicide
Tetrazines	Clofentezine	Acaricid
Rianoides	Chlorantraniliprole	Insecticid
Quinones	Dithianon	Fungicide

исследовано несколько видов плодов цитрусовых (апельсины, мандарины, лимоны, грейпфруты и лаймы), а также выполнена модификация технологии QuEChERS для обоснования оптимального подхода для извлечения аналитов из сложной матрицы.

Для действующего вещества дитианона показана важность контроля pH на стадии экстракции, а также частичная потеря аналита на сорбентах, что потребовало корректировки схемы пробоподготовки. На стадии экстракции в образец вносили 0,1 мл уксусной кислоты (pH ~ 2,0), стадию сорбционной очистки исключили.

При обосновании нижнего предела количественной идентификации веществ учитывали международные требования, в соответствии с которыми методика по возможности должна быть ориентирована на нижний предел количественного определения 0,01 мг/кг (ppm) [19].

Ввиду более низкого уровня гигиенического норматива, установленного для фипронила (включая метаболит фипронил-сульфон), нижний предел их количественного определения был снижен до величины МДУ (0,005 мг/кг).

Структура вещества гекситазокса и технические возможности оборудования не позволили получить надёжный результат на уровне 0,01 мг/кг. Принимая во внимание установленную величину МДУ для данного вещества в цитрусовых (0,5 мг/кг), нижний предел определения был увеличен до величины, обеспечивающей контроль гигиенического норматива для данного вещества.

Содержание метаболитов в образцах (ометоат, фипронил-сульфон и 3-кето-карбофуран) 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), 0,94 (3-кето-карбофуран в эквиваленте карбофурана).

Обсуждение

В настоящее время остаточные количества пестицидов прежде всего связывают с продукцией, поступающей из стран, не являющихся членами Европейского союза (ЕС), вместе с тем информация о наличии в 45% продуктов питания производства ЕС пестицидов – весьма тревожный факт. Фрукты и овощи по-прежнему вызывают беспокойство во всём мире в связи с несоблюдением требований в отношении остаточных количеств пестицидов, за ними следуют какао и продукты из него, кофе и чай [10].

При выделении перечня анализируемых веществ прежде всего опирались на Каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешённых к применению на территории Российской Федерации [9], согласно которому для применения на цитрусовых культурах рекомендовано более 35 препаратов. Принимали во внимание СаПиН-1.2.3685-21, в котором имеются МДУ в цитрусовых для более 90 наименований активных ингредиентов (в том числе МДУ для импортируемой продукции), а также рассматривали базу данных Европейского союза по максимально допустимым уровням пестицидов в пищевой продукции [20].

Распространение и применение для пробоподготовки различных видов продукции методики QuEChERS, имеющей множество преимуществ по отношению к классическим методам, обусловлено возможностью получения надёжных результатов при минимальных трудозатратах. В основу реализации метода QuEChERS в аналитическом контроле остаточных количеств пестицидов в различных пищевых продуктах, сырье растительного и животного происхождения положена градация продуктов на группы и категории, которая в настоящее время представлена в Руководящем документе по аналитическому контролю качества и процедурам валидации методов определения остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах и кормах [14].

Сложность матрицы цитрусовых для анализа остатков пестицидов неоспорима. Повышенная кислотность, содер-

жание в кожуре большого количества пектинов и сложных ароматических соединений могут приводить к высоким матричным эффектам [21].

Описанная в научных работах возможность добавления щёлочи при проведении пробоподготовки не дала ощутимых результатов для обеспечения полноты извлечения аналитов из матриц цитрусовых. При проведении пробоподготовки образец массой 10 г экстрагировали ацетонитрилом с использованием солей с цитратным буфером. Готовили образцы с добавлением 0,6 мл 5N NaOH, так и без добавления щёлочи. Очистку экстрактов проводили, применяя смесь сорбентов первично-вторичного амина (150 мг), MgSO₄ (900 мг) и октадецилсилана (150 мг). Опытным путём было выяснено, что добавление на стадии экстракции 0,6 мл раствора гидроксида натрия не приводит к значительному увеличению полноты извлечения аналитов. Поэтому при валидации методики стадия добавления щёлочи была исключена.

Однако следует отметить, что нельзя говорить об универсальности пробоподготовки образцов по технологии QuEChERS даже для одной и той же матрицы. Так, для действующего вещества дитианона добавление в процессе экстракции 0,6 мл 5N NaOH приводило практически к полной потере вещества, в отсутствие щёлочи полнота извлечения была ниже 70%. Была поставлена задача поиска процедуры пробоподготовки, обеспечивающей удовлетворительное извлечение данного вещества из матрицы цитрусовых.

В ходе экспериментальной работы отмечено, что из более кислой матрицы (лимон и апельсин) дитианон извлекается лучше. Имеется информация об использовании при извлечении дитианона из растительных продуктов ацетонитрила, подкислённого уксусной или серной кислотами, а также повышения выхода аналита при отмене очистки на сорбентах после экстракции [22]. Учитывая данный подход, на стадии экстракции в образец вносили 0,1 мл уксусной кислоты (pH ~ 2,0) и исключили стадию сорбционной очистки.

Используя вышеизложенные методические подходы, разработан мультиметод определения в цитрусовых уровней действующих веществ пестицидов, по структуре и свойствам относящихся к различным химическим классам соединений. Показатели качества (в виде характеристики погрешности и её составляющих) охарактеризованы по результатам статистической обработки экспериментальных данных, полученных при исследовании модельных проб плодов цитрусовых, обогащённых анализируемыми веществами на четырёх уровнях внесения.

Разработанная методика была апробирована при исследовании плодов цитрусовых культур, импортированных из Абхазии, Турции и Египта. Выполнено определение остаточных количеств пестицидов в плодах мандаринов, апельсинов, грейпфрутов и лимонов. Из списка определяемых аналитов в отдельных образцах фруктов были идентифицированы остаточные количества следующих действующих веществ: имазалил в диапазоне концентраций 0,015–0,42 мг/кг (установленная величина МДУ для импортируемой продукции 5 мг/кг); пириметанил – 0,073–2,1 мг/кг (ВМДУ 7 мг/кг); тиабендазол – 0,18–1,4 мг/кг (при МДУ для импортируемой продукции 5 мг/кг), в минорных концентрациях обнаружены азоксистробин, дифеноконазол, имидаклоприд, прохлораз, клотианидин и пирипроксифен.

Все выявленные остаточные количества не превышают величин МДУ/ВМДУ для импортируемой продукции, что подтверждает её безопасность. Таким образом, метод обеспечивает контроль остаточных количеств пестицидов в импортируемой продукции цитрусовых с переделом обнаружения существенно ниже МДУ.

Заключение

В контексте научно-методического обеспечения контроля соответствия пищевой продукции, в том числе импортируемой, требованиям законодательства Евразийского эконо-

мического союза, выявления и предотвращения внутренних и внешних угроз продовольственной безопасности Российской Федерации разработан метод многокомпонентного определения остаточных количеств пестицидов в плодах цитрусовых культур.

Современное развитие аналитической химии пестицидов, использование тандема газовой и жидкостной хромато-масс-спектрометрии позволило реализовать групповой метод анализа для идентификации широкого спектра соединений в плодах цитрусовых культур (50 наименований

действующих веществ пестицидов и их токсичных метаболитов), позволяющий выявлять незаявленные (новые) контактанты в импортируемой продукции.

Разработанная методика, утверждённая в виде официального документа (МУК 4.1.3657-20), апробирована при исследовании плодов цитрусовых (мандарины, апельсины, грейпфруты, лимоны), импортированных из Абхазии, Турции и Египта. Выявленные остаточные количества пестицидов не превышали МДУ/ВМДУ для импортируемой продукции, что подтверждает её безопасность.

Литература

(п.п. 10–20, 22 см. References)

1. Климова Е.В. Экологические основы развития растениеводства в субтропиках России (проблемы экологически безопасного применения пестицидов для защиты цитрусовых культур и фундука от болезней и вредителей). *Экологическая безопасность в АПК*. 2007; (4): 1044.
2. Хлопцева Р.И. Использование послеуборочной обработки жасмоновой кислотой и метилжасмонатом для борьбы с оливково-зеленой плесневидной гнилью (возб. *Penicillium digitatum*) плодов грейпфрута при хранении. (Израиль). *Экологическая безопасность в АПК*. 2001; (4): 969.
3. Статистический сервис SeaNews. Продуктовый импорт, 8 месяцев 2020: в августе выросли поставки цитрусовых. Available at: <https://seanews.ru/2020/10/30/ru-produktovyy-import-8-mesjacev-2020-v-avguste-vyrosli-postavki-citrusovyh/>
4. Даньков В.В., Скрипниченко М.М., Горбачева Н.Н. *Субтропические культуры*. СПб.: Лань; 2014.
5. Путилина Т.И. К вопросу идентификации и оценки качества цитрусовых фруктов. В кн.: *Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции «Особенности государственного регулирования внешнеэкономической деятельности в современных условиях»*. Ростов-на-Дону; 2020: 340–7.
6. Плотникова Т.В., Позняковский В.М., Ларина Т.В., Елисева Л.Г. *Экспертиза свежих плодов и овощей*. Новосибирск; 2001.
7. Ларина Т.Н. *Тропические и субтропические плоды: справочник товароведов*. М.: ДеЛи принт; 2002.
8. Воронин В.И. Экспертиза цитрусовых плодов: особенности и рекомендации по совершенствованию. *Молодой ученый*. 2020; (15): 94–8.
9. Справочник пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. М.: Листерра; 2020.
21. 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. <https://doi.org/10.22281/2413-9920-2017-03-01-09-17>

References

1. Klimova E.V. Ecological foundations of plant development in the subtropics of Russia (problems of ecologically safe use of pesticides for cultivated citrus fruits and hazelnuts from diseases and pests). *Ekologicheskaya bezopasnost' v APK*. 2007; (4): 1044. (in Russian)
2. Khloptseva R.I. Use of post-harvest treatment with jasmonic acid and methyl jasmonate to combat olive green mold rot (exoc. *Penicillium digitatum*) of grapefruit fruits during storage. (Israel). *Ekologicheskaya bezopasnost' v APK*. 2001; (4): 969. (in Russian)
3. Statistical service SeaNews. Food imports, 8 months 2020: citrus supply increased in August. Available at: <https://seanews.ru/2020/10/30/ru-produktovyy-import-8-mesjacev-2020-v-avguste-vyrosli-postavki-citrusovyh/> (in Russian)
4. Dan'kov V.V., Skripnichenko M.M., Gorbacheva N.N. *Subtropical Cultures [Subtropicheskie kul'tury]*. St. Petersburg: Lan'; 2014. (in Russian)
5. Putilina T.I. On the issue of identification and quality assessment of citrus fruits. In: *Proceedings of the VII All-Russian Scientific-Practical Conference «Features of State Regulation of Foreign Economic Activity in Modern Conditions» [Materialy VII Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Osobennosti gosudarstvennogo regulirovaniya vneshneekonomicheskoy deyatel'nosti v sovremennykh usloviyakh»]*. Rostov-na-Donu; 2020: 340–7. (in Russian)
6. Plotnikova T.V., Poznyakovskiy V.M., Larina T.V., Eliseeva L.G. *Expertise of Fresh Fruits and Vegetables [Ekspertiza svezhikh plodov i ovoshchey]*. Novosibirsk; 2001. (in Russian)
7. Larina T.N. *Tropical and Subtropical Fruits: a Commodity Expert's Guide [Tropicheskie i subtropicheskie plody: spravochnik tovaroveda]*. Moscow: DeLi print; 2002. (in Russian)
8. Voronin V.I. Expertise of citrus fruits: features and recommendations for improvement. *Molodoy uchenyy*. 2020; (15): 94–8. (in Russian)
9. Handbook of pesticides and agrochemicals approved for use in the Russian Federation. Moscow: Listerra; 2020. (in Russian)
10. The 2018 European Union report on pesticide residues in food. Available at: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2020.6057>
11. 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>
12. Paya' P., Anastassiades M., Mack D., Sigalova I., Tasdelen 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>
13. Lehotay S.J., Son K.A., Kwon H., Koesukkiwat U., Fud W., Mastovska K., Hoh E., et al. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *J. Chromatogr. A*. 2010; 1217(16): 2548–60. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.01.044>
14. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. EC № SANTE/12682/2019. Imp. 2020-01-01; 2020.
15. AOAC Official Method 2007.01. Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate; 2007. Available at: http://www.weber.hu/Downloads/SPE/QuEChERS/AOAC_2007_01.pdf
16. Lehotay S.J. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *J. AOAC Int.* 2007; 90(2): 485–520.
17. Kmeřlár B., Fodor P., Pareja L., Ferrer C., Martínez-Uroz M.A., Valverde A., et al. Validation and uncertainty study of a comprehensive list of 160 pesticide residues in multi-class vegetables by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 2008; 1215(1–2): 37–50. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.10.121>
18. Lehotay S.J., de Kok A., Hiemstra M., van Bodegraven P. Validation of a fast and easy method for the determination of 229 pesticide residues in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection. *J. AOAC Int.* 2005; 88(2): 595–614.
19. European Commission: Guidans Document on Pesticide Residue Analytical Methods. SANCO/825/00. Imp. 2010-11-16. Directorate General Health and Consumer Protection; 2010.
20. EU Pesticides Database. Available at: https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-db_en
21. Andorolov A.M., Kuznetsov S.V., Aфонин M.B. Matrix effect in analysis of pesticide residues in fruits and vegetables by high performance liquid chromatography with quadrupole-time of flight mass spectrometry. *Nauchno-tekhnicheskij vestnik Bryanskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2017; (1): 9–17. <https://doi.org/10.22281/2413-9920-2017-03-01-09-17> (in Russian)
22. Analytical Method Report Analysis of Dithianon in Food of Plant Origin using acidified QuEChERS and LC-MS/MS. Available at: https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/meth_Dithianon_EurlSRM.pdf