



Федорова Н.Е.¹, Добрева Н.И.¹, Козак Д.К.², Иванов А.И.³, Соболев Д.Н.¹,
Панченко М.Н.²

Аналитический контроль остаточных количеств гербицида трифлуралина при оценке безопасности пищевой продукции

¹ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 1410014, Мытищи, Россия;

²ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 117105, Москва, Россия;

³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае», 660100, Красноярск, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Трифлуралин является системным гербицидом химического класса производных динитроанилина. При мониторинговых исследованиях трифлуралин был обнаружен в моркови, выращенной на территории Российской Федерации. Поскольку пестициды на основе трифлуралина в нашей стране не разрешены, остаточные количества вещества не являются типичными для данной культуры. При изучении контаминации моркови трифлуралином были проведены подтверждающие качественные и количественные исследования.

Цель исследования — повышение эффективности идентификации и достоверности количественных результатов при проведении мониторинга безопасности пищевой продукции путём подтверждающих аналитических исследований на примере определения трифлуралина в моркови.

Материалы и методы. Для идентификации и количественного определения трифлуралина был использован метод газовой хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ГХ-МС/МС). Подготовка образцов к анализу выполнена по методике QuEChERS. Идентификацию проводили методом мониторинга множественных реакций (MRM) с помощью тройного квадрупольного масс-спектрометра с использованием от двух до четырёх MRM-переходов (m/z): 306, 1 → 264; 264 → 206; 264 → 188; 264 → 160, 1. Для количественного определения применялась калибровка, согласованная с матрицей.

Результаты. Эффективность скрининговых исследований при проведении мониторинга пищевой продукции методом ГХ-МС/МС может быть существенно повышена за счёт увеличения количества MRM-переходов (не менее трёх), контроля референтного времени удерживания вещества, соблюдения соотношения подтверждающих ионов. Для получения достоверной количественной оценки содержания трифлуралина в моркови рекомендуется использование калибровки, согласованной с матрицей.

Ограничение исследования. Исследована пищевая продукция одного вида (морковь).

Заключение. Подтверждение результатов испытаний особенно важно при определении остатков пестицидов, которые обычно не встречаются в данной матрице, а также в случае предположительного превышения максимально допустимого уровня их содержания. При проведении скринингового исследования и обнаружении загрязнителя пищевой продукции о контаминации продукта можно сообщить только предварительно. Далее необходим подтверждающий анализ с использованием валидированного количественного метода, в том числе соответствующей процедуры калибровки. При количественном анализе присутствие компонентов образца матрицы может вызвать проблемы из-за подавления либо усиления отклика образцов. Калибровка с учётом матрицы показала свою эффективность в компенсации эффектов матрицы.

Ключевые слова: трифлуралин; морковь; качественная идентификация; количественный анализ; газовая хроматография в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ГХ-МС/МС)

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует представления заключения комитета по биомедицинской этике или иных документов.

Для цитирования: Федорова Н.Е., Добрева Н.И., Козак Д.К., Иванов А.И., Соболев Д.Н., Панченко М.Н. Аналитический контроль остаточных количеств гербицида трифлуралина при оценке безопасности пищевой продукции. *Гигиена и санитария*. 2024; 103(9): 1062–1069. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-9-1062-1069> <https://elibrary.ru/fwrxmj>

Для корреспонденции: Федорова Наталья Евгеньевна, e-mail: analyt1@yandex.ru

Участие авторов: Федорова Н.Е. — концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование; Добрева Н.И. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста, редактирование; Козак Д.К. — концепция и дизайн исследования; Иванов А.И., Соболев Д.Н., Панченко М.Н. — сбор и обработка материала. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

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

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 08.05.2024 / Принята к печати: 19.06.2024 / Опубликовано: 16.10.2024

Natalia E. Fedorova¹, Natalia I. Dobрева¹, Daria K. Kozak², Aleksandr A. Ivanov³,
Dmitriy N Sobolev¹, Mihail N. Panchenko²

Analytical control of residues of the herbicide trifluralin in the assessment of the food safety

¹Federal Scientific Center of Hygiene named after F. Erisman, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Mytishchi, 141014, Russian Federation;

²Federal Center for Hygiene and Epidemiology, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Moscow, 117105, Russian Federation;

³Center for Hygiene and Epidemiology in the Krasnoyarsk Territory, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Krasnoyarsk, 660100, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Trifluralin is a systemic herbicide of the chemical class of dinitroaniline derivatives. During monitoring studies, trifluralin was detected in carrots produced in the Russian Federation. Since trifluralin-based pesticides are not approved for the use in the Russian Federation, residual amounts of the substance are not typical for this crop. To check the contamination of carrots with a pesticide not typical for this crop, confirmatory qualitative and quantitative studies were carried out.

Purpose of the work. Increasing the efficiency of identification and reliability of quantitative results when monitoring food products for safety when performing confirmatory analytical studies using the example of determining trifluralin in carrots to assess the safety of food products intended for the consumer.

Materials and methods. Gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) was used to identify and quantify trifluralin. Samples were prepared for analysis using the QuEChERS method. Identification was carried out by multiple reaction monitoring (MRM) using a triple quadrupole mass spectrometer using two to four MRM transitions (m/z): 306,1→264,0; 264,0→206,0; 264,0→188,0; 264,0→160,1. Matrix-matched calibration was used for quantitation.

Results. The effectiveness of screening studies when monitoring food products using the GC-MS/MS method can be significantly elevated by increasing the number of MRM transitions (at least 3), controlling the reference retention time of the substance, and maintaining the ratio of confirmatory ions. To obtain a reliable quantification of trifluralin content in carrots, the use of a matrix-matched calibration is recommended.

Limitation. In the study, only carrots were considered as food products.

Conclusion. Confirmation of test results is especially important when determining pesticide residues that are not normally found in a given matrix, or when it is suspected that the maximum permissible level may be exceeded. When conducting a screening study and detecting a food contaminant, contamination of the product can only be reported in advance. Next, a confirmatory analysis is required using a validated quantitative method, including an appropriate calibration procedure. In quantitative analysis, the presence of matrix sample components can cause problems due to sample suppression/enhancement phenomena. Matrix-aware calibration has been shown to be effective in compensating for matrix effects.

Keywords: trifluralin; carrots; qualitative identification; quantitative analysis; gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry (GC-MS/MS)

Compliance with ethical standards. The study does not require a biomedical ethics committee opinion.

For citation: Fedorova N.E., Dobрева N.I., Kozak D.I., Ivanov A.I., Sobolev D.N., Panchenko M.N. Analytical control of residues of the herbicide trifluralin in the assessment of the food safety. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2024; 103(9): 1062–1069. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2024-103-9-1062-1069> <https://elibrary.ru/fwrxmj> (In Russ.)

For correspondence: Natalia E. Fedorova, e-mail: analyt1@yandex.ru

Contribution: Fedorova N.E. — the concept and design of the study, writing the text, editing; Dobрева N.I. — the concept and design of the study, collection and processing of the material, statistical analysis, writing the text, editing; Kozak D.I. — the concept and design of the study; Ivanov A.I., Sobolev D.N., Panchenko M.N. — collection and processing of the material. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

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

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received: May 8, 2024 / Accepted: June 19, 2024 / Published: October 16, 2024

Введение

Применение средств химической защиты растений, ставшее неотъемлемым элементом современного земледелия, привело к загрязнению почвенного покрова остаточными количествами гербицидов и их метаболитов. Гербициды, относящиеся к химическому классу динитроанилинов, длительное время применяются в посевах различных сельскохозяйственных культур для истребления сорной растительности. Из веществ данной группы наиболее широко распространены пендиметалин и трифлуралин.

Трифлуралин (химическое наименование 2,6-динитро-N,N-дипропил-4-(трифторметил)анилин) — синтетический фторированный динитроанилиновый гербицид, рекомендуемый для борьбы с однолетними травами и широколиственными сорняками в полевых культурах. Трифлуралин препятствует митозу и ингибирует сборку микротрубочек, ограничивая полимеризацию тубулина, структурного белка растительных клеток, что впоследствии ингибирует рост и приводит к гибели растений [1].

Трифлуралин является высокоэффективным довсходовым гербицидом, может использоваться для обработки почвы перед посадкой культуры, но полезен и при механизированной культивации для обеспечения безопасности урожая. В среднем вещество разлагается в почве в течение вегетационного периода. Однако и само вещество, и некоторые его метаболиты могут сохраняться до трёх лет, что рекомендуется учитывать при использовании препаратов в севообороте. Отмечены фитотоксические последствия для некоторых культур севооборота (просо, луговые травы), при неблагоприятных условиях возможно также угнетение овса, кукурузы, ячменя, риса, пшеницы, свёклы [2].

Благодаря низкой растворимости в воде (0,221 мг/л при pH = 7,0 и температуре плюс 20 °C), склонности к адсорбции на частицах почвы трифлуралин относительно неподвижен в почве [3]. Период полувыведения трифлуралина составляет 375 дней, с длительным остаточным временем в почве [4].

Ранние эксперименты на животных позволили установить, что трифлуралин обладает низкой токсичностью [5]. Однако недавние исследования показали, что трифлуралин

может влиять на митохондриальную функцию [6], обладает генотоксичностью [7] и действует в клетках млекопитающих как стойкий биотоксин [8]. С его воздействием связывают более высокие показатели заболеваемости сельскохозяйственных рабочих раком [9]. Агентством по охране окружающей среды США трифлуралин классифицируется как потенциальный канцероген для человека класса С и предположительный эндокринный разрушитель, имеющий высокий потенциал риска для здоровья человека [10, 11].

Трифлуралин характеризуется высокой летучестью (давление паров $\approx 9,5$ мПа) [12], имеет константу Генри $10,2 \text{ Па} \cdot \text{м}^3/\text{моль}^{-1}$ при температуре плюс 25°C , в связи с чем он относительно легко попадает в атмосферу и может переноситься по воздуху на большие расстояния [13, 14].

Ма и соавт. (2015) сообщают, что остаточные количества трифлуралина были обнаружены в воздухе и реках арктической Канады, и полагают, что основным источником данного вещества является сельское хозяйство [15]. Из-за высокого потенциала биотоксичности и генотоксичности, высокой устойчивости в почве и возможности переноса в атмосфере на большие расстояния трифлуралин был запрещён на европейском рынке в марте 2009 г. [16–18]. В настоящее время препараты на основе трифлуралина в каталог пестицидов, разрешённых для применения на территории Российской Федерации, не включены.

Несмотря на запрет во многих европейских странах, включая Великобританию, трифлуралин по-прежнему широко используется в США, Австралии и других странах, в том числе на хлопковых полях, особенно в Китае [19]. В настоящее время во всём мире ежегодно используется около 4400 т трифлуралина, в основном для выращивания хлопка, люцерны и соевых бобов [20, 21].

В Российской Федерации и странах Таможенного союза содержание трифлуралина в воде, почве, воздухе и пищевых продуктах регламентируется «Едиными санитарно-эпидемиологическими и гигиеническими требованиями к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)»¹ и СанПиН 1.2.3685–21². При этом, согласно «Единым требованиям», содержание этого гербицида ограничено не только в продукции, при производстве которой ранее было разрешено его использование, но и в злаках, табаке, арбузах, хлопчатнике, а также в моркови и других овощах. Трифлуралин применялся как предвсходовый почвенный гербицид. До недавнего времени считалось, что он практически не перемещается от корней к стеблям, листьям и плодам, следовательно, в этих частях растений его содержание должно быть невелико. Однако исследования показали, что в сое и подсолнечнике этот гербицид распределяется по всему растению. Активно накапливается трифлуралин в корнеплодах, в частности моркови [2].

Для изучения накопления трифлуралина в моркови, выращенной на почве, обработанной данным гербицидом из расчёта $0,84 \text{ кг/га}$, были выполнены целенаправленные исследования с ^{14}C -меченым трифлуралином [22]. Определяли общее количество ^{14}C -остатков в мытой и немойтой моркови, а также в кожуре и мякоти. В кожуре была обнаружена более высокая концентрация остатков ^{14}C , чем в мякоти. Немытая морковь содержала больше остатков ^{14}C , чем мытая, и количество остатков ^{14}C было выше во флореме, чем в ксилеме [22]. Настораживает тот факт, что содержание трифлуралина в соке было выше, чем в использованной для его приготовления моркови. Остаточные количества трифлуралина в жареной моркови были в 1,4 раза выше, чем в сырой, что говорит о концентрировании при жарке. Морковь, включая морковный сок, относится к продуктам для детского питания, и это подчёркивает важность надёжного контроля остаточных количеств вещества в продукции, реализуемой или предназначенной для реализации на потребительском рынке.

¹ «Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)».

² СанПиН 1.2.3685–21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания». Утверждены Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 №2.

Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае при мониторинговых исследованиях с целью определения остаточных количеств пестицидов в пищевой продукции, предназначенной для реализации на потребительском рынке, выявил трифлуралин в образце моркови, выращенной на территории Российской Федерации. Поскольку пестициды на основе трифлуралина не разрешены для применения в нашей стране, для действующего вещества в моркови установлен МДУ $0,01 \text{ мг/кг}$ (СанПиН 1.2.3685–21), результат, полученный лабораторией, требовал проверки.

Цель исследования — повышение эффективности идентификации и достоверности количественных результатов при проведении мониторинга безопасности пищевой продукции путём подтверждающих аналитических исследований на примере определения трифлуралина в моркови.

Материалы и методы

Объектом исследования был образец корнеплодов моркови с выявленным трифлуралином. В качестве холостого образца использовали образец моркови, приобретённый в сетевом магазине.

Исследования проводили на базе трёх лабораторий Роспотребнадзора: ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае (лаборатория № 1), ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора (лаборатория № 2), ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (лаборатория № 3).

Анализ образцов на содержание действующего вещества проводили методом газовой хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС/МС) в соответствии с СТБ EN 15662–2017, пробоподготовку выполняли по технологии QuEChERS [5].

По процедуре пробоподготовки на первой стадии аналитический образец массой 10 г, помещённый в полипропиленовую пробирку объёмом 50 мл, экстрагировали ацетонитрилом в присутствии солей, содержащих цитратный буфер. На второй стадии аликвоту экстракта (6 мл) переносили в пробирку (15 мл) со смесью первичных и вторичных аминов (PSA) и сульфата магния. Перемешивание образцов выполняли вручную и с применением вихревого шейкера типа Вортекс. После каждой стадии пробирки с экстрактом центрифугировали при скорости вращения 4500–6000 оборотов в минуту в течение 2–3 мин. Полученный экстракт использовали непосредственно для анализа или упаривали до влажного остатка с применением системы параллельного упаривания и концентрирования BioChromato Smart Evaporator C10. Остаток растворяли в смеси гексана с толуолом.

Лаборатория № 1 количественное определение проводила с использованием газового хромато-масс-спектрометра Shimadzu GCMS-TQ8050, колонки Shimadzu SH-Rxi-5Sil MS ($30 \text{ м} \times 0,25 \text{ мм} \times 0,25 \text{ мкм}$), температура испарителя плюс 250°C , ввод пробы под давлением 250 кПа , температура ионного источника плюс 230°C , температура интерфейса плюс 290°C . Измерения выполняли при двух альтернативных температурных программах термостата.

Программа 1. Температура плюс 105°C (3 мин) $\rightarrow 10^\circ\text{C/мин} \rightarrow 130^\circ\text{C}$ (0 мин) $\rightarrow 4^\circ\text{C/мин} \rightarrow 200^\circ\text{C}$ (0 мин) $\rightarrow 8^\circ\text{C/мин} \rightarrow 290^\circ\text{C}$ (6 мин) (общая длительность 40,25 мин), режим газа-носителя: линейная скорость, $44,1 \text{ см/с}$.

Программа 2. Температура плюс 90°C (1 мин) $\rightarrow 30^\circ\text{C/мин} \rightarrow 130^\circ\text{C}$ (0 мин) $\rightarrow 10^\circ\text{C/мин} \rightarrow 320^\circ\text{C}$ (3 мин) (общая длительность 24,33 мин), режим газа-носителя: линейная скорость, 55 см/с . Лаборатория № 1 провела анализ методом мониторинга множественных реакций в альтернативных хроматографических условиях с двумя подтверждающими MRM-переходами: $264,1 \rightarrow 206,1$ и $264,1 \rightarrow 160,1$.

Лаборатория № 2 использовала газовый хроматограф Agilent GC/MS Triple Quad 7010B + GC7890B, колонку Agilent HP5-MS UI ($30 \text{ м} \times 0,25 \text{ мм} \times 0,25 \text{ мкм}$). Анализ проводили также методом множественных реакций с использованием четырёх MRM-переходов: $306,1 > 264$; $264 > 206$; $264 > 188$; $264 > 160,1$.

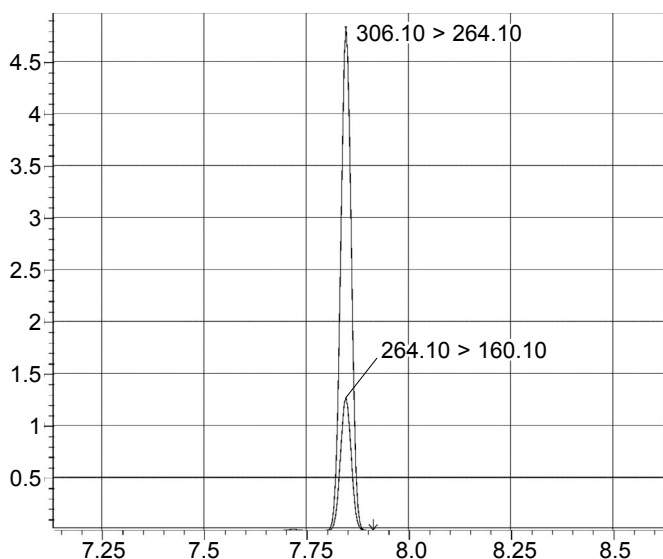


Рис. 1. Хроматограмма образца моркови, обработанная с применением матричной калибровки на экстракте картофеля (лаборатория № 1).

Fig. 1. Chromatogram of a carrot sample treated using matrix calibration on potato extract (Laboratory No. 1).

Лаборатория № 3 также выполняла идентификацию и количественные измерения на тандемном трёхквadrupольном газовом хромато-масс-спектрометре Agilent 7010B/7890B с использованием аналогичной колонки HP-5ms Ultra Inert (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) в условиях программирования температуры. Режим работы масс-спектрометра — мониторинг множественных реакций. Были выбраны следующие MRM-переходы (отношение «масса — заряд», m/z): 306,1 → 264 (количественный), 264 → 206; 264 → 160,1 (подтверждающие).

В работе использован аналитический стандарт трифлуралина с содержанием основного компонента более 97%. Для количественного определения готовили стандартный раствор контролируемого компонента и последовательным разбавлением получали рабочие растворы для калибровки, содержащие вещество в диапазоне концентраций 0,005–0,1 мкг/мл. Применяемые растворители и реактивы включали ацетонитрил, *n*-гексан, толуол высокой степени очистки (для ВЭЖХ-МС).

Результаты

При количественных измерениях, особенно с применением газовой хромато-масс-спектрометрии, прежде всего необходимо оценить влияние эффекта матрицы на аналитический результат [23]. Известно, что использование калибровки на растворителе может являться источником ошибочных результатов при оценке безопасности пищевой продукции.

Сущность матричной калибровки заключается в компенсации эффектов матриц за счёт использования экстракта аналогичного или близкого (репрезентативного) холостого образца, относящегося к той же категории продуктов, вместо органического растворителя.

При отсутствии холостого образца допускается использование рабочих проб, прошедших проверку на содержание исследуемых компонентов (сигнал вещества в условно холостом экстракте не превышает 30% величины сигнала в экстракте пробы с внесением на нижнем градуировочном уровне).

Рабочие матричные растворы готовили двумя способами.

Способ № 1. Градуировочные растворы, согласованные с матрицей, готовят тем же способом, что и градуировочные растворы на растворителе, используя вместо растворителя экстракт холостой пробы.

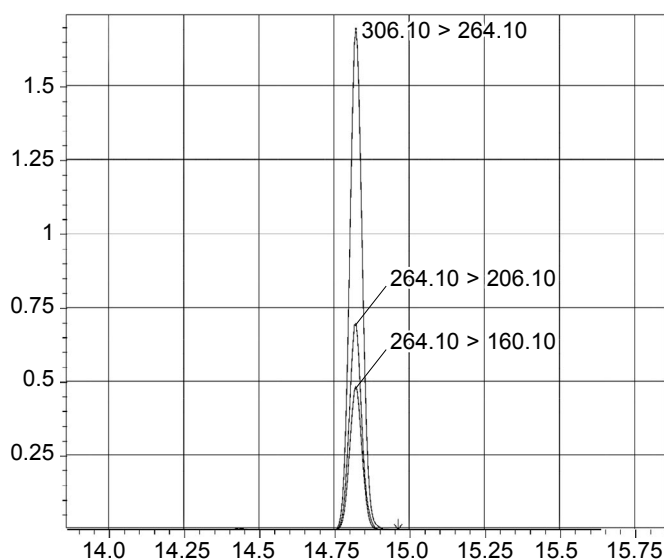


Рис. 2. Хроматограмма образца моркови, обработанная с применением матричной калибровки на чистом образце моркови (лаборатория № 1).

Fig. 2. Chromatogram of a carrot sample treated using matrix calibration on a pure carrot sample (Laboratory No. 1).

Способ № 2. Для приготовления рабочих матричных градуировочных растворов отбирают несколько навесок холостого образца в количестве, соответствующем числу градуировочных уровней. В каждую навеску вносят раствор с содержанием исследуемых компонентов на соответствующем градуировочном уровне. Проводят пробоподготовку в соответствии с видом продукции.

Лаборатория № 1 на первом этапе готовила матричные градуировочные растворы согласно способу № 1, используя экстракт пробы картофеля, не содержащий трифлуралина. Клубни картофеля являются продуктом с большим содержанием воды (более 70%), входят в одну категорию продуктов с корнеплодами моркови [23].

Градуировочная характеристика была построена на чистой матрице картофеля методом стандартной добавки в аликвоту (1 мл) экстракта картофеля в трёх параллелях на трёх градуировочных уровнях (0,005; 0,05; 0,1 мкг/г). Далее экстракты упаривали при температуре плюс 40 °С в вакууме и растворяли в 1 мл смеси толуола с гексаном в соотношении 1 : 19. Формула градуировочной зависимости интенсивности пика (Y) от концентрации трифлуралина (X), построенная методом регрессионного анализа, имеет вид $Y = 1,092685e + 007 \cdot X - 4250,809$ (коэффициент корреляции 0,9997).

Для количественного расчёта использован MRM-переход с отношением «масса — заряд» (m/z) 306,1 → 264,1, подтверждение выполняли по одному MRM-переходу с отношением m/z 264,1 → 160,1 (рис. 1). Отклонение в соотношении ионов не превышало 30%. Результат определения составил $0,072 \pm 0,036$ мкг/кг.

Для проверки качества результатов и подтверждения возможности использования картофеля в качестве репрезентативного продукта, относящегося к одной категории культур с морковью, градуировочная характеристика дополнительно была построена на чистой матрице моркови методом внесения в пробу в трёх параллелях на трёх градуировочных уровнях (0,01; 0,05; 0,1 мкг/г). Формула градуировочной зависимости интенсивности пика (Y) от концентрации трифлуралина (X) имеет вид $Y = 1,554665e + 007 \cdot X - 14559,4$ (коэффициент корреляции 0,9999).

При определении использованы следующие MRM-переходы (m/z): 306,1 → 264,1 (количественный), 264,1 → 206,1 и 264,1 → 160,1 (подтверждающие). Отклонение в соотношении ионов не превышало 30% (рис. 2).

Результат определения составил $0,034 \pm 0,017$ мкг/кг.

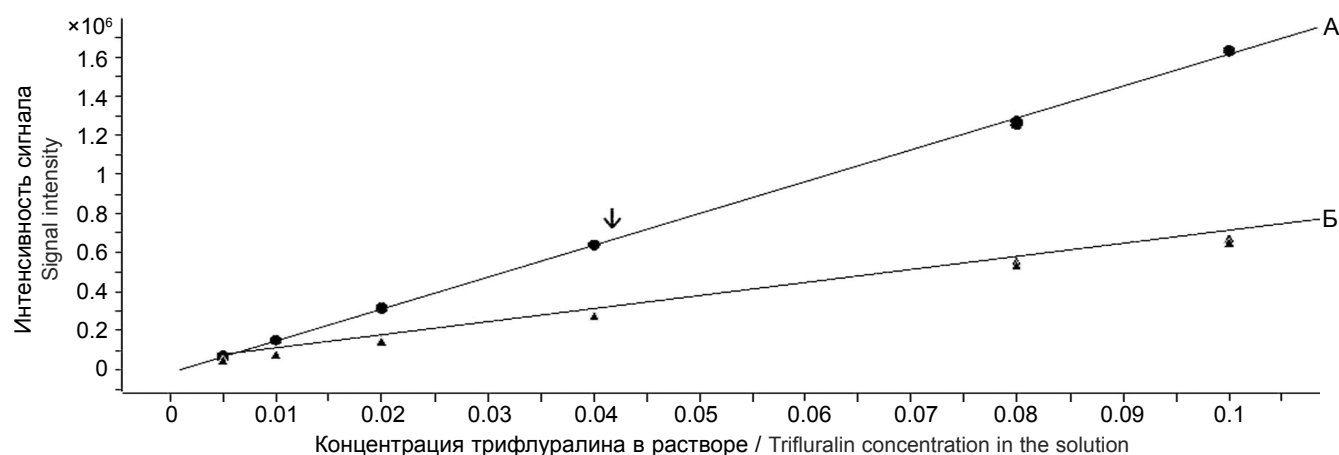


Рис. 3. Графики калибровочной зависимости трифлуралаина. А – матричная калибровка с использованием холостого образца моркови (коэффициент корреляции $R = 0,9995$), формула зависимости: $Y = 16284103,729485X - 13784,619459$. Б – абсолютная калибровка на растворителе (коэффициент корреляции $R = 0,9977$), формула зависимости: $Y = 6363605,178828X + 22086,068950$.

Fig. 3. Graphs of the calibration dependence of trifluralin. А – matrix calibration using a blank carrot sample (correlation coefficient $R = 0.9995$). Dependency formula: $Y = 16284103.729485X - 13784.619459$. Б – absolute calibration on a solvent (correlation coefficient $R = 0.9977$). Dependency formula: $Y = 6363605.178828X + 22086.068950$.

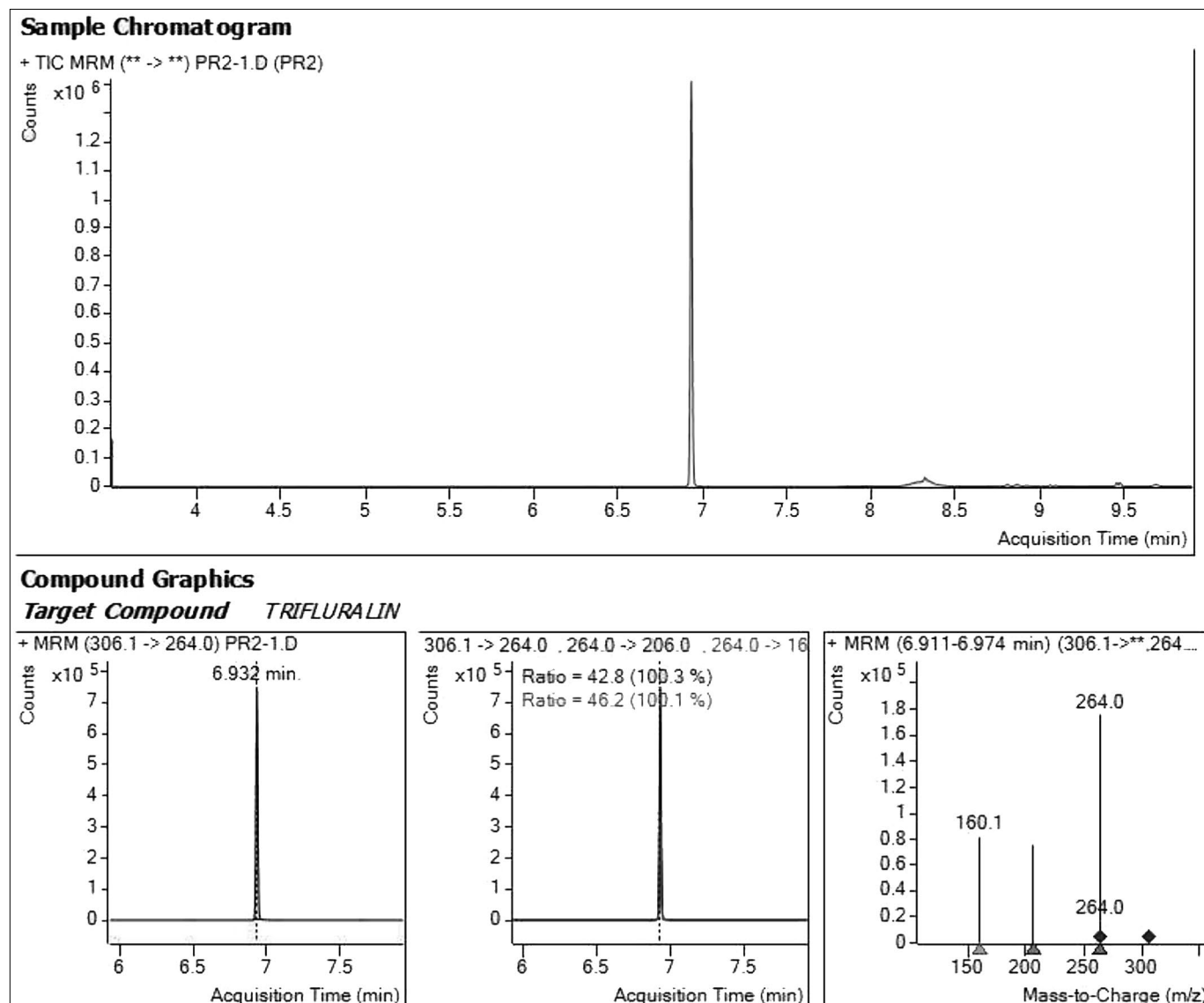


Рис. 4. Хроматограмма пробы моркови (лаборатория № 3).

Fig. 4. Chromatogram of a carrot sample (Laboratory No. 3).

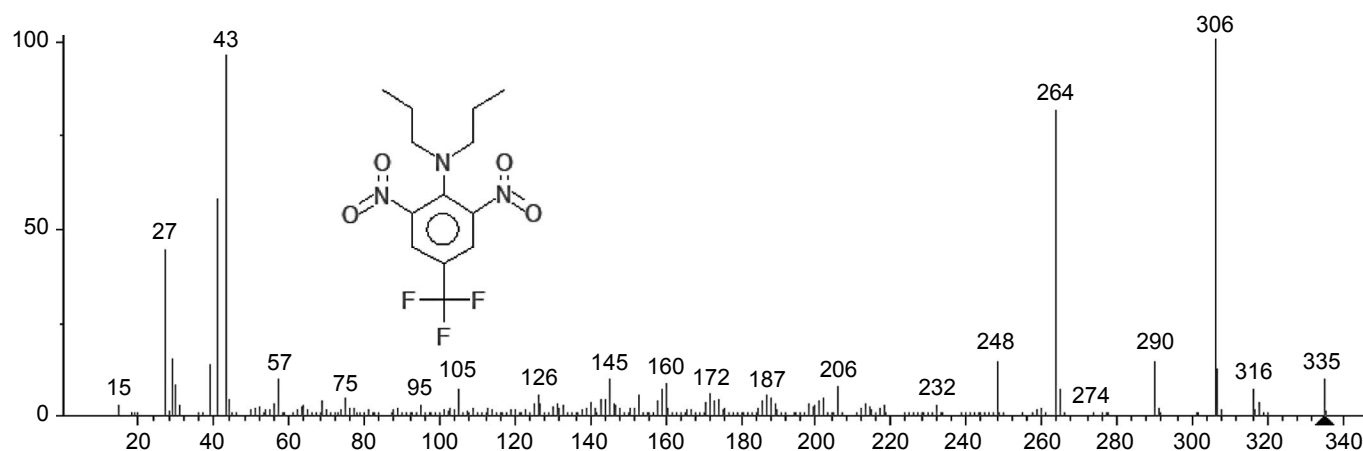


Рис. 5. Масс-спектр трифлуралина (библиотеки NIST MS).

Fig. 5. Mass spectrum of trifluralin (NIST MS libraries).

Для изучения матричных эффектов лабораторией № 3 были получены градуировочные характеристики, выражающие зависимость площадей пиков от концентрации вещества методом абсолютной калибровки и матричной калибровки по шести растворам для градуировки в диапазоне (0,005–0,1) мкг/мл (рис. 3). Лаборатория № 3 готовила рабочие матричные градуировочные растворы способом № 2, для чего были отобраны шесть навесок холостого образца моркови. В каждую навеску вносили раствор с содержанием исследуемого компонента на соответствующем градуировочном уровне. Проводили пробоподготовку, получали рабочие растворы на основе матрицы с соответствующей концентрацией для каждого градуировочного уровня.

Оба варианта калибровки демонстрируют высокий коэффициент корреляции (более 0,99), тем не менее тангенс угла наклона градуировочной зависимости при матричной калибровке, построенной на чистом образце моркови, существенно выше.

На рис. 4 приведена хроматограмма испытуемого образца моркови.

Обработка хроматограммы с применением абсолютной калибровки на растворителе показала результат 0,1 мг/кг. При использовании калибровки, согласованной с матрицей моркови, результат составил 0,042 мг/кг.

Обсуждение

Подтверждение результатов испытаний особенно важно при определении остатков пестицидов, которые обычно не встречаются в данной матрице, и (или) когда предполагается превышение их максимально допустимого уровня [24]. Известны случаи загрязнения веществами, которые не являются пестицидами, но при некоторых хроматографических методах ведут себя аналогичным образом и могут привести к ошибочному толкованию результатов. Например, таковы сигналы эфиров фталевой кислоты (фталатов) при использовании детекторов электронного захвата, как было ранее показано в наших исследованиях [25], и серосодержащих веществ при применении азотно-фосфорных детекторов.

Различают два метода подтверждения результатов:

- качественный, если остатки оказываются нетипичными;
- количественный, когда содержание пестицидов предположительно превышает их максимально допустимые количества.

Необходимость подтверждения может зависеть от типа пробы или её предварительной обработки. Требуемые для положительной идентификации действия проводят по усмотрению аналитика. Особое значение придают методам, которые исключают влияние веществ, мешающих проведению испытания.

На первом этапе скринингового анализа трифлуралина лабораторией № 1 была выполнена идентификация по двум подтверждающим МРМ-переходам (m/z): 306,1 $\rightarrow$ 264,1 и 264,1 $\rightarrow$ 160,1. Соотношение «сигнал – шум» превышало 3, отклонение от референтного значения отношений ионов не превышало допустимого значения (30%).

Для исключения ложноположительной идентификации вещества лабораторией № 2 скрининг был выполнен с включением двух дополнительных МРМ-переходов: m/z 306,1 $\rightarrow$ 264; m/z 264 $\rightarrow$ 206; m/z 264 $\rightarrow$ 188; m/z 264 $\rightarrow$ 160,1. На рис. 5 показан масс-спектр трифлуралина.

Во время скринингового анализа образца моркови положительная идентификация трифлуралина оценивалась на основании критериев времени удерживания ($\pm 0,2$ мин), отношения ионов ($\pm 30\%$), учёта соотношений «сигнал – шум» (> 3).

Добавление стандарта к образцу во время подтверждающего анализа показало, что содержание трифлуралина в образце существенно больше предела обнаружения, отличие во времени удерживания не превышало 0,1 мин, соотношение подтверждающих ионов не выходило за границы $\pm 30\%$, соотношение «сигнал – шум» превышало 3 для всех изучаемых откликах ионов.

Методы, основанные на пробоподготовке QuEChERS и хромато-масс-спектрометрическом определении, незаменимы при мониторинге остаточных количеств пестицидов в пищевой продукции и продовольственном сырье. Технология QuEChERS, воспринимаемая как удобная и универсальная, может тем не менее способствовать введению компонентов матрицы в систему измерения и повлиять на результаты анализа.

Как и ожидалось, при использовании внешней калибровки на растворителе результаты были завышены из-за усиления сигнала анализируемого вещества компонентами матрицы.

Содержание трифлуралина в пробе, рассчитанное по абсолютной калибровке на растворителе, составило 0,1 мг/кг, по матричной калибровке с использованием чистого образца моркови – 0,034–0,042 мг/кг. Результаты, полученные в двух лабораториях, полностью сопоставимы. Матричный эффект (усиление хроматографического сигнала) составил более 200%. Матричная калибровка с использованием экстракта образца картофеля, относящегося к той же категории культур, что и морковь, не позволила в полной мере компенсировать эффект матрицы моркови, завышая результаты практически в два раза. Результаты подтверждающих исследований свидетельствуют о том, что при проведении количественных измерений оптимальным является наличие контрольных (холостых) проб аналогичного продукта.

Заключение

Скрининг и количественное определение остаточных количеств пестицидов в продуктах питания — одна из самых актуальных задач в области безопасности пищевых продуктов. Большинство пестицидов анализируют с помощью методов многокомпонентного анализа, охватывающих сотни соединений и применяемых к различным пищевым продуктам. Быстрые и надёжные аналитические методики должны обеспечивать уверенную идентификацию и количественное определение сотен пестицидов при низких концентрациях в широком диапазоне матриц пищевых продуктов.

Согласно критериям эффективности методов идентификации и подтверждения Комиссии Кодекс Алиментариус ФАО/ВОЗ [26], при выборе методов идентификации из основных учитываемых факторов приоритетна специфичность. В связи с этим tandemная масс-спектрометрия в комбинации с методом хроматографического выделения является очень мощным инструментом идентификации компонентов, содержащихся в экстракте пробы. Соотношения «сигнал — шум» для измеренных пиков должны быть более 3, и (или) сигнал должен превышать уровень пороговой интенсивности по сравнению с сигналом подходящего калибровочного стандарта или контроля, охватывающего представляющий интерес уровень.

Кроме того, важным аспектом являются референтные значения времени удерживания компонентов, определяемые из одновременно анализируемых калибровочных стандартов высокой концентрации, соответствующих матрице. Если же известно, что интерференции отсутствуют, можно исполь-

зовать стандартизированные растворы на неводной основе. Время удерживания для аналита в экстракте должно соответствовать референтному значению в пределах $\pm 0,2$ мин (или 0,2% относительного времени удерживания) как для газовой, так и для жидкостной хроматографии. Однако рутинные анализы комбинаций сотен соединений и пищевых матриц показали, что ложноположительная идентификация пестицидов в определённых пищевых матрицах всё же присутствует [27]. В связи с этим использование как минимум трёх MRM-переходов следует рассматривать как общую рекомендацию и неисключительную политику, которая часто должна поддерживаться процессом добавления стандартов.

Когда исследуемый компонент обнаружен, о нём можно сообщить только предварительно. Последующий подтверждающий анализ с использованием валидированного количественного метода, в том числе соответствующей процедуры калибровки, должен быть применён до того, как может быть сообщён надёжный количественный результат.

При количественном анализе присутствие компонентов образца матрицы может вызвать проблемы из-за явления подавления либо усиления отклика образцов. Эти проблемы устраняются с помощью соответствующего метода калибровки. Калибровка с учётом матрицы показала свою эффективность в компенсации эффектов матрицы. Тем не менее нельзя утверждать, что существует такое понятие, как универсальный метод калибровки. Для образцов со сложной матрицей могут использоваться различные подходы или комбинация методов, а при наличии серьёзных помех не исключено использование альтернативных инструментальных средств или новых приёмов подготовки образцов [28].

Литература

(п.п. 1–24, 26–28 см. References)

25. Юдина Т.В., Федорова Н.Е., Ларькина М.В., Егорченкова О.Е. Определение хлороталонила в персиках: проблемы газохроматографической идентификации с электрозахватным детектором. *Гигиена и санитария*. 2016; 95(11): 1108–12. <https://doi.org/10.18821.0016-9900-2016-95-11-1108-1112> <https://elibrary.ru/xsnrvr>

References

1. Chowdhury I.F., Doran G.S., Stodart B.J., Chen C., Wu H. Trifluralin and atrazine sensitivity to selected cereal and legume crops. *Agronomy*. 2020; 10: 587. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040587>
2. Tiryaki O., Gözek K., Khan S.U. 14C-Residues of trifluralin in a soil and their uptake by carrots. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1997; 59(1): 58–64. <https://doi.org/10.1007/s001289900443>
3. Karasali H., Pavlidis G., Marousopoulou A., Ambrus A. Occurrence and distribution of trifluralin, ethalfuralin, and pendimethalin in soils used for long-term intensive cotton cultivation in central Greece. *J. Environ. Sci. Health B*. 2017; 52(10): 719–28. <https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1356678>
4. Epp J.B., Schmitzer P.R., Crouse G.D. Fifty years of herbicide research: comparing the discovery of trifluralin and halauxifen-methyl. *Pest. Manag. Sci.* 2018; 74(1): 9–16. <https://doi.org/10.1002/ps.4657>
5. Gaines T.B., Linder R.E. Acute toxicity of pesticides in adult and weanling rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1986; 7(2): 299–308. [https://doi.org/10.1016/0272-0590\(86\)90160-0](https://doi.org/10.1016/0272-0590(86)90160-0)
6. De Oliveira B., Pereira L.C., Pazin M., Franco-Bernardes M.F., Dorta D.J. Do trifluralin and tebutiuron impair isolated rat liver mitochondria? *Pestic. Biochem. Physiol.* 2020; 163: 175–84. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.11.012>
7. Hakala J.A., Chin Y.P. Abiotic reduction of pendimethalin and trifluralin in controlled and natural systems containing Fe(II) and dissolved organic matter. *J. Agric. Food Chem.* 2010; 58(24): 12840–6. <https://doi.org/10.1021/jf102814b>
8. Biscaglia K.J., Dharia M., Kaur M., Pavlovici F.A. Leachability and potential ecotoxic impact of trifluralin-impregnated mulch. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 2018; 25(3): 2972–80. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0575-0>
9. Weichenthal S., Moase C., Chan P. A review of pesticide exposure and cancer incidence in the Agricultural Health Study cohort. *Environ. Health Perspect.* 2010; 118(8): 1117–25. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901731>
10. Huang X., He J., Yan X., Hong Q., Chen K., He Q., et al. Microbial catabolism of chemical herbicides: Microbial resources, metabolic pathways and catabolic genes. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2017; 143: 272–97. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.11.010>
11. Milhorne M.A.L., de Lima L.K., de A. Nobre C., de A.F. Lima F., do Nascimento R.F. Effect of ozonization in degradation of trifluralin residues in aqueous and food matrices. *J. Environ. Sci. Health B*. 2018; 53(12): 786–92. <https://doi.org/10.1080/03601234.2018.1505074>
12. Wauchope R.D., Buttler T.M., Hornsby A.G., Augustijn-Beckers P.W., Burt J.P. The SCS/ARS/CES pesticide properties database for environmental decision-making. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 1992; 123: 1–155.
13. Le Person A., Mellouki A., Muñoz A., Borrás E., Martin-Reviejo M., Wirtz K. Trifluralin: photolysis under sunlight conditions and reaction with HO^{*} radicals. *Chemosphere*. 2007; 67(2): 376–83. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.09.023>
14. Çinar C.T., Tiryaki O., Uzun O., Basaran M. Adaptation and validation of QuEChERS method for the analysis of trifluralin in wind-eroded soil. *J. Environ. Sci. Health. Part B*. 2012; 47(9): 842–50. <https://doi.org/10.1080/03601234.2012.693878>
15. Ma Y., Xie Z., Halsall C., Möller A., Yang H., Zhong G., et al. The spatial distribution of organochlorine pesticides and halogenated flame retardants in the surface sediments of an Arctic fjord: the influence of ocean currents vs. glacial runoff. *Chemosphere*. 2015; 119: 953–60. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.09.012>
16. European Food Safety Authority (EFSA). Conclusion on pesticide peer review, peer review of the pesticide risk assessment of the active substance trifluralin. *EFSA Sci. Rep.* 2009; 327: 1–111. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.327r>
17. Karasali H., Pavlidis G., Marousopoulou A., Ambrus A. Occurrence and distribution of trifluralin, ethalfuralin, and pendimethalin in soils used for long-term intensive cotton cultivation in central Greece. *J. Environ. Sci. Health B*. 2017; 52(10): 719–28. <https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1356678>
18. Guerrero Ramírez J.R., Ibarra Muñoz L.A., Balagurusamy N., Frías Ramírez J.E., Alfaro Hernández L., Carrillo Campos J. Microbiology and Biochemistry of Pesticides Biodegradation. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24(21): 15969. <https://doi.org/10.3390/ijms242115969>
19. Kong H., Yi L.L., Lan Y.B., Kong F.X., Han X. Exploring the operation mode of spraying cotton defoliation agent by plant protection UAV. *Int. J. Precis. Agric. Aviat.* 2020; 3(1). <https://doi.org/10.33440/ij.paa.20200301.65>
20. Zhang W.J. Global pesticide use: profile, trend, cost, benefit and more. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*. 2018; 8(1): 1–27. Available at: [https://iaees.org/publications/journals/piaees/articles/2018-8\(1\)/global-pesticide-use-Profile-trend-cost-benefit.pdf](https://iaees.org/publications/journals/piaees/articles/2018-8(1)/global-pesticide-use-Profile-trend-cost-benefit.pdf)
21. Coleman N.V., Rich D.J., Tang F.H.M., Vervoort R.W., Maggi F. Biodegradation and Abiotic Degradation of Trifluralin: A Commonly Used

- Herbicide with a Poorly Understood Environmental Fate. *Environ. Sci. Technol.* 2020; 54(17): 10399–410. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02070>
22. Tiryaki O., Gozek K., Yucel U., Ilim M. The effect of food processing on 14C-trifluralin residues in carrot. *Toxicol. Environ. Chem.* 1996; 53(1-4): 227–33. <https://doi.org/10.1080/02772249609358287>
23. Analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Supersedes Document No. SANTE/11312/2021 v2/. Available at: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf
24. Recommendations for methods of analysis of pesticide residues (CAC/PR 8 1985). Codex Alimentarius Commission. Rome: FAO, WHO; 1985.
25. Yudina T.V., Fedorova N.E., Lar'kina M.V., Egorchenkova O.E. Determination of residual amounts of chlorothalonil in peaches: problems of gas chromatographic identification with the use of electron capture detector. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2016; 95(11): 1108–12. <https://doi.org/10.18821.0016-9900-2016-95-11-1108-1112> <https://elibrary.ru/xsnrvr> (in Russian)
26. CXG 90-2017. Guidelines on the criteria for the effectiveness of analytical methods used to determine the residual content of pesticides in food and feed. Available at: <https://fao.org/fao-who-codexalimentarius/thematic-areas/pesticides/en/>
27. Tóth E., Bálint M., Tölgyesi Á. False Positive Identification of Pesticides in Food Using the European Standard Method and LC-MS/MS Determination: Examples and Solutions from Routine Applications. *Appl. Sci.* 2022; 12: 12005. <https://doi.org/10.3390/app122312005>
28. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. Arlington: Association of Official Analytical Chemists; 2002: 1–38. Available at: <https://clck.ru/3Di6mP>

Сведения об авторах

Федорова Наталья Евгеньевна, доктор биол. наук, гл. науч. сотр. отд. аналитических методов контроля ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 1410014, Мытищи, Россия. E-mail: analyt1@yandex.ru

Добрева Наталья Ивановна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отд. аналитических методов контроля ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 1410014, Мытищи, Россия

Козак Дарья Константиновна, канд. биол. наук, начальник лаб. физико-химических исследований — химик-эксперт ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора, 117105, Москва, Россия. E-mail: KozakDK@fcgie.ru

Иванов Александр Игоревич, химик-эксперт ФБУЗ «ЦГиЭ» в Красноярском крае» Роспотребнадзора, 660100, Красноярск, Россия. E-mail: ivan_chay@yahoo.com

Соболев Дмитрий Николаевич, мл. науч. сотр. отд. аналитических методов контроля ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора 1410014, Мытищи, Россия

Панченко Максим Николаевич, химик-эксперт ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора, 117105, Москва, Россия. E-mail: fbuz_mn@internet.ru

Information about the authors

Nataliia E. Fedorova, MD, PhD, DSci., chief researcher, Department of analytical control methods, Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, 141014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-8278-6382> E-mail: analyt1@yandex.ru

Nataliia I. Dobрева, MD, PhD, senior researcher, Department of analytical control methods, Federal Center for Hygiene and Epidemiology, Mytishchi, 141014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-9415-1007>

Daria K. Kozak, MD, PhD, head of the Laboratory of Physical and Chemical Research — expert chemist, Federal Center for Hygiene and Epidemiology, Moscow, 117105, Russian Federation, E-mail KozakDK@fcgie.ru

Alexandr I. Ivanov, expert chemist, Center for Hygiene and Epidemiology in the Krasnoyarsk Territory, Federal Center for Hygiene and Epidemiology, Krasnoyarsk, 660100, Russian Federation, <https://orcid.org/0009-0003-0519-9151> E-mail ivan_chay@yahoo.com

Dmitriy N. Sobolev, junior researcher, Department of analytical control methods, Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Mytishchi, 141014, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-1899-1530>

Maksim N. Panchenko, expert chemist of the Federal Center for Hygiene and Epidemiology, Moscow, 117105, Russian Federation, E-mail: fbuz_mn@internet.ru