

Читать  
онлайнRead  
online

Бехтерев В.Н., Мищенко И.В., Комарова Н.С.

## Экстракционное вымораживание как простой и малозатратный метод пробоподготовки при определении хлорорганических пестицидов в рисе

Сочинский филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае», 354000, Сочи, Россия

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** В мире ведётся постоянный поиск экологических методов защиты растений, однако химические средства в этой области используются очень широко. Даже после установления опасных последствий применения хлорорганических пестицидов (ХОП), исключения их из списка разрешённых в ряде стран производство и использование этих веществ не прекращается. Имеется информация об обнаружении остаточных количеств ХОП в продуктах питания и биотканях людей, следовательно, существует очевидный риск для здоровья человека.

**Цель исследования** — разработка быстрого газохроматографического метода определения ДДТ, ДДД, ДДЭ и изомеров ГХЦГ в рисе на основе экстракционного вымораживания в качестве этапа пробоподготовки.

**Материалы и методы.** Объект экспериментального изучения — зерновой рис, в том числе с добавками ХОП. Газохроматографическое определение токсикантов осуществляли после экстракционного вымораживания в смесь ацетонитрила с этоксиэтаном в условиях центрифугирования пробы (ЭВЦ) и сернокислотного удаления соэкстрактивных веществ.

**Результаты.** Изучена и подтверждена эффективность извлечения ХОП методом ЭВЦ из измельчённого риса на этапе подготовки пробы к газохроматографическому исследованию. Для удаления соэкстрактивных компонентов из получаемого извлечения предложена стадия очистки серной кислотой. Получены результаты, подтверждающие точность и низкую погрешность определения токсикантов.

**Ограничения исследования.** В работе исследовали зерновой рис. Производимые из риса продукты не изучали.

**Заключение.** Создана методика газохроматографического определения остаточных количеств ДДТ, ДДД, ДДЭ и изомеров ГХЦГ в рисе с предварительным выделением аналитов экстракционным вымораживанием и сернокислотным удалением соэкстрактивных веществ. Областью применения разработки является санитарно-гигиенический контроль качества пищевых продуктов. Метод обеспечивает определение ХОП в пробе массой 3 г на уровне ниже установленных ПДК с относительной погрешностью, не превышающей 20%. Пробоподготовка осуществляется при отрицательных температурах. Процедура проста, экономически выгодна, предполагает небольшой расход реактивов и материалов. Продолжительность этапа подготовки пробы — менее 1 ч.

**Ключевые слова:** рис; хлорорганические пестициды; экстракционное вымораживание; криоэкстрактор; хроматография

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование не требует заключения комитета по биомедицинской этике и иных документов.

**Для цитирования:** Бехтерев В.Н., Мищенко И.В., Комарова Н.С. Экстракционное вымораживание как простой и малозатратный метод пробоподготовки при определении хлорорганических пестицидов в рисе. *Гигиена и санитария*. 2025; 104(4): 497–502. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-4-497-502> <https://elibrary.ru/qlftvy>

**Для корреспонденции:** Бехтерев Виктор Николаевич, e-mail: vic-bekhterev@yandex.ru

**Участие авторов:** Бехтерев В.Н. — концепция и дизайн исследования, планирование и осуществление экспериментальных исследований, статистическая обработка массива результатов, анализ литературных данных, обсуждение результатов и написание рукописи статьи, утверждение окончательного варианта текста; Мищенко И.В. — обсуждение результатов, редактирование, утверждение окончательного варианта текста; Комарова Н.С. — утверждение окончательного варианта рукописи статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

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

**Финансирование.** Данное исследование выполнено на инициативной основе без финансовой поддержки.

Поступила: 06.10.2024 / Поступила после доработки: 11.11.2024 / Принята к печати: 03.12.2024 / Опубликовано: 30.04.2025

Viktor N. Bekhterev, Irina V. Mishchenko, Natalia S. Komarova

## Extractive freezing-out as an easy-to-use and cheap method for a sample preparation in the determination of organochlorine pesticides in rice

Sochi Branch of the Center for Hygiene and Epidemiology in the Krasnodar Territory, Sochi, 354000, Russian Federation

### ABSTRACT

**Introduction.** Despite efforts to find ecological methods for plant protection, the level of the use of chemical protection products are used very widely. Even after the establishment of the dangerous consequences of the use of organochlorine pesticides (OChPs), exclusion from the list of permitted pesticides in a number of countries, their production and use is still taking place. Information about the residual amounts of OChPs in food, as well as human biological tissues, is alarming. This represents a direct potential risk to human health.

The **purpose** of the research is to develop a rapid gas chromatographic method for the determination of DDT, DDD, DDE and HCH isomers in rice based on the extractive freezing-out as a sample preparation step.

**Materials and methods.** The object of experimental study is grain rice, including one with OChPs additives. Gas chromatographic determination of toxicants was carried out after extractive freezing-out into a mixture of acetonitrile with ethoxyethane under the centrifugation of the sample (ECS) and by the sulfuric acid removal of co-extractives.

**Results.** The efficiency of extraction of OChPs by the ECS method from rice grinding as the stage of sample preparation for gas chromatographic examination has been studied and confirmed. Purification with sulfuric acid is proposed for removing co-extractive components from the resulting extract. The results confirming the accuracy and low error in the determination of toxicants were obtained.

**Limitations.** Grain rice was studied in the work. Rice products have not been studied.

**Conclusion.** A technique has been created for the gas chromatographic determination of residual amounts of DDT, DDD, DDE, and HCH isomers in rice with preliminary isolation of analytes by extractive freezing-out and sulfuric acid removal of co-extractive substances. The field of application of the development is sanitary and hygienic quality control of food products. The method provides the determination of OChPs in a sample weighing 3 g at a level below the established

MPC with a relative error not exceeding 20%. Sample preparation is carried out at subzero temperatures. The procedure is simple, has a low cost, consumption of reagents, materials. The duration of the sample preparation stage is less than 1 hour.

**Keywords:** rice; organochlorine pesticides; extractive freezing-out; cryoextractor; chromatography

Compliance with ethical standards. The study does not require the conclusion of the biomedical ethics committee and other documents.

**For citation:** Bekhterev V.N., Mishchenko I.V., Komarova N.S. Extractive freezing-out as an easy-to-use and cheap method for a sample preparation in the determination of organochlorine pesticides in rice. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2025; 104(4): 497–502. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-4-497-502> <https://elibrary.ru/qlftiyv> (In Russ.)

**For correspondence:** Viktor N. Bekhterev, e-mail: vic-bekhterev@yandex.ru

**Contribution:** Bekhterev V.N. — concept and design of the study, planning and implementation of experimental studies, statistical processing of the array of results, analysis of literary data, discussion of the results and writing the manuscript of the article, approval of the final version of the text; Mishchenko I.V. — discussion of the results, editing, approval of the final version of the text; Komarova N.S. — approval of the final version of the manuscript of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article. 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: October 6, 2024 / Revised: November 11, 2024 / Accepted: December 3, 2024 / Published: April 30, 2025

## Введение

Внимание к экологическим последствиям использования пестицидов и их негативному влиянию на здоровье населения планеты не ослабевает. Учёные прилагают значительные усилия, разрабатывая экологические методы защиты человека, домашних животных и растений от вредных насекомых и болезней, но, к сожалению, уровень применения химических средств борьбы остаётся существенным. Поэтому вполне объяснимы случаи обнаружения остаточных количеств пестицидов в продуктах питания. Особенно это касается зерновых культур [1], так как практически весь объём их производства в мире базируется на интенсивном ведении сельского хозяйства, а оно основано на пестицидной защите урожая. Более того, даже после установления опасных последствий использования хлорорганических пестицидов (ХОП), исключения их из списка разрешённых для применения во многих странах [2] производство и использование этих средств сохраняется. Так, например, согласно [3], в 2001–2014 гг. на фоне глобального сокращения применения ДДТ с 5144 до 3491 т в год по действующему веществу (д. в.) его производство сохранялось в Индии, Китае и КНДР. Масштабы мирового потребления ДДТ с 1950 по 1972 г. составили более 4,5 млн тонн [2]. В 2001–2014 гг. лидером потребления этого инсектицида была Индия (84% мирового объёма), где в борьбе с малярией и лейшманиозом, а также в сельском хозяйстве только в 2014 г. было использовано 3092 т (по д. в.). Невозможность полного отказа от ДДТ объясняется появлением устойчивости вредителей к пиретроидным и карбаматным препаратам. В связи с этим настораживают имеющиеся сведения о содержании остаточных количеств хлорорганических пестицидов в продуктах питания [4], а также информация [5] о значительном уровне остаточных количеств ХОП в рисе (0,053 мг/кг для ДДТ и 0,039 мг/кг для ГХЦГ) и в жировой ткани людей (3,8 мг/кг для ДДТ и 0,898 мг/кг для ГХЦГ) (Jiangsu Province, China). Очевидно, что существует прямой потенциальный риск для здоровья человека.

Рис вместе с кукурузой и пшеницей составляет почти 90% мирового производства зерновых [1], занимает значительное место в рационе населения большинства стран планеты и является постоянным объектом экспортно-импортных межгосударственных взаимодействий, поэтому необходимость контроля качества этого пищевого сырья по содержанию пестицидов очевидна. Однако официальные методики определения ДДТ, ДДД, ДДЭ и ГХЦГ в зерне<sup>1,2,3</sup>, в том числе рисе, из арсенала контролирующих государственных орга-

низаций Российской Федерации трудоёмки и сложны, требуют специального лабораторного оборудования, большого набора реактивов и расходных материалов. В связи с этим актуальны поиск и разработка экономичных, эффективных и быстрых методов контроля содержания указанных хлорсодержащих пестицидов в рисе.

Целью настоящего исследования была разработка быстрого метода определения остаточных количеств ДДТ, ДДД, ДДЭ и изомеров ГХЦГ в рисе на основе экстракционного вымораживания в качестве этапа предварительной подготовки пробы к газохроматографическому анализу.

Способ экстракционного вымораживания, в том числе в режиме центрифугирования образца (ЭВЦ), предлагает новый принцип выделения аналитов из водосодержащих сред [6, 7]. Метод совмещает экстракцию с вымораживанием и основан на низкотемпературном извлечении целевых компонентов с помощью перераспределения растворённых органических веществ между жидкой фазой предварительно добавленного незамерзающего гидрофильного растворителя и образующейся твёрдой фазой льда во время замораживания. Границу раздела фаз «жидкость — твёрдое тело» формируют в исходной смеси экстрагента с водосодержащей смесью (раствор или дисперсия) путём охлаждения с образованием льда, в том числе и в условиях действия поля центробежных сил.

В настоящее время указанный метод экстракции успешно применяется на этапе предварительной подготовки биологических проб в судебно-химической практике, экологических и санитарно-гигиенических исследованиях водных объектов, демонстрирует выгодные качества, простоту и экспрессность процедуры. Научный и практический интерес представляла возможность применения метода ЭВЦ на этапе пробоподготовки при контроле качества пищевых продуктов, в частности при определении остаточных количеств хлорсодержащих пестицидов в рисе.

## Материалы и методы

**Реагенты.** Использовали стандартные образцы пестицидов, поставленных «ОПТИМУМ» (Российская Федерация), в чистом виде с содержанием действующего вещества не ниже 99%. Этоксизтан марки х. ч., ТУ 2600-001-43852015—10 приобретён в ООО «Кузбассоргхим» (Российская Федерация), гексан (сорт 1) и ацетонитрил (сорт 0) приобретены в ООО «НПК Криохром» (Российская Федерация). Серная кислота марки х. ч. приобретена в ООО «Сигма Тек» (Российская Федерация).

**Аппаратура.** Для приготовления модельных и стандартных растворов аналитов, определения массы получаемого экстракта использовали аналитические весы Mettler Toledo XS 205DU. Исследовали получаемые экстракты и стандартные смеси на газовом хроматографе «Кристаллюкс-4000М» (Российская Федерация) с электронозахватным детектором (ГХ-ЭЗД) и капиллярной колонкой длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, стационарная фаза ZB-5, толщина плёнки 0,5 мкм (Phenomenex).

<sup>1</sup> Количественный химический анализ продукции растительно-го происхождения и почв. Методика измерения остаточных количеств пестицидов в пробах овощей, фруктов, зерна и почв методом хромато-масс-спектрометрии. М.: Россельхознадзор; 2010. 65 с.

<sup>2</sup> ГОСТ 31481—2012 «Комбикорма, комбикормовое сырьё. Метод определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов. М.: Стандартинформ; 2012. 15 с.

<sup>3</sup> ГОСТ 32194—2013 (ISO 14181:2000) «Корма, комбикорма. Определение остатков хлорорганических пестицидов методом газовой хроматографии. М.: Стандартинформ; 2014. 28 с.

На этапе изолирования аналитов из водной матрицы применяли метод ЭВЦ, который положен в основу работы серийно выпускаемого криоэкстрактора «ЭВЦ-2» (ООО НПФ «Метахром» / ООО «Химбиомед», Россия) [https://www.meta-chrom.ru/catalog/samplers/extractor/].

**Методика эксперимента.** Принцип метода экстракционного вымораживания в условиях центрифугирования описан в работах [6–8]. Исследуемые модельные образцы готовили внесением аналитов в навеску предварительно перемолотого в кофемолке риса, помещённую в стеклянную вialу, в виде необходимого количества стандартного раствора в ацетонитриле. После добавления 50%-й смеси ацетонитрила с водой флакон герметично закрывали заворачивающейся крышкой. Интенсивно перемешивали для удаления комков, проводили извлечение пестицидов из пробы, встряхивая в течение 5 мин. Затем к образцу добавляли 0,5 мл этоксиэтана, вновь перемешивали и помещали в ротор криоэкстрактора «ЭВЦ-2» для кристаллизации водной части образца и получения экстракта в виде незамерзающей его части. Условия проведения процедуры ЭВЦ: температура минус  $30 \pm 2$  °C, скорость вращения ротора 4000 об./мин (центробежное ускорение порядка 1650 g), время процедуры 25 мин. После этапа ЭВЦ верхний, жидкий органический слой (ацетонитрил-этоксиэтановый экстракт) отделяли декантацией, упаривали потоком воздуха досуха и растворяли в 0,2 мл гексана. Добавляли к гексановому экстракту 0,1 мл концентрированной серной кислоты, закрывали полиэтиленовой пробкой, осторожно перемешивали образец и помещали в холодильную камеру криоэкстрактора «ЭВЦ-2» на 15–20 мин без центрифугирования при температуре минус  $30 \pm 2$  °C для замораживания сернокислотной части. Далее гексановый верхний жидкий (бесцветный) экстракт переносили, сливая с застывшей поверхностью серной кислоты, декантацией в аналитическую вialу и определяли ХОП с помощью ГХ-ЭЗД.

## Результаты

В результате оптимизации предложена методика предварительной подготовки проб для ГХ-определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов в рисе методом экстракционного вымораживания в режиме центрифугирования. Схема методики анализа показана на рис. 1 (см. на вклейке).

Последовательность процедуры пробоподготовки состоит из следующих операций:

- в стеклянную вialу ёмкостью 12 мл с заворачивающейся полиэтиленовой крышкой помещают пробу предварительно измельчённого до состояния муки зерна риса массой  $3 \pm 0,05$  г;
- добавляют 7 мл смеси ацетонитрила с водой (1 : 1) и, тщательно перемешав до исчезновения комков, вialу с содержимым помещают на встряхиватель для проведения экстракции в течение 5 мин;
- по истечении этого времени к полученной суспензии добавляют 0,5 мл этоксиэтана и, интенсивно перемешав, вialу с пробой помещают в ротор криоэкстрактора «ЭВЦ-2», противоположно уравновесив её согласно инструкции в роторе другой вialой эквивалентной массы, например, «контрольной» с дистиллированной водой для контроля качества реактивов или параллельно анализируемой другой пробой риса;
- экстракционное вымораживание в условиях центрифугирования образца проводят при скорости вращения ротора 4000 об./мин (1650 g) в течение 25 мин при температуре минус  $30 \pm 2$  °C;
- по окончании полученный жидкий экстракт (масса » 1,5 г) с застывшей части образца (рис. 2, см. на вклейке) сливают в пенициллиновый флакон, осторожно удаляя растворители потоком воздуха резиновой грушей (или мини-компрессором для аквариума), остаток растворяют в 0,2 мл гексана и добавляют 0,1 мл концентрированной серной кислоты;

- закрыв полиэтиленовой пробкой и осторожно перемешав, не допуская разбрызгивания, помещают в холодильную камеру криоэкстрактора «ЭВЦ-2» на 15–20 мин без центрифугирования при температуре минус  $30 \pm 2$  °C для замораживания сернокислотной части образца (она формируется внизу и окрашена в буро-коричневый цвет);
- после этого гексановый верхний жидкий (бесцветный) экстракт (см. рис. 2 на вклейке) переносят, сливая с застывшей поверхности серной кислоты декантацией в аналитическую вialу и определяют в нём ХОП с помощью ГХ-ЭЗД;
- расчёт содержания каждого из обнаруженных пестицидов в пробе анализируемой воды  $X_{np}$  (мг/кг) с использованием калибровочных зависимостей проводят по формуле (1):

$$X_{np} = c_{np} \cdot V_g \cdot 1000 / (m \cdot R), \quad (1)$$

где  $c_{np}$  — концентрация найденного пестицида во введённом в инжектор хроматографа гексановом экстракте пробы, установленная по калибровочному графику, мг/мл;  $V_g$  — объём гексанового экстракта пробы перед этапом хроматографического исследования (0,2 мл), мл;  $m$  — масса анализируемой пробы (3 г), взятой на ЭВЦ, г;  $R$  — степень извлечения пестицида.

Степень извлечения ( $R$ ) для каждого пестицида была определена в серии модельных экспериментов с предварительным добавлением известного количества аналита в измельчённую пробу до начала процедуры пробоподготовки. Параметр  $R$  — это отношение найденной массы пестицида в анализируемом гексановом экстракте к количеству добавки в пробу. При уровне содержания от 0,02 до 0,1 мг/кг в пробе  $R$  составил для альфа-ГХЦГ 0,67, бета-ГХЦГ 0,87, гамма-ГХЦГ 0,8, ДДЭ 0,70, ДДД 0,75 и ДДТ 0,84. При этом относительная погрешность результатов определения ХОП в данном диапазоне концентраций в серии из пяти параллельных проб не превышала 20%. Предложенный метод обеспечивает предел обнаружения ДДТ, ДДД, ДДЭ и изомеров ГХЦГ в пробе риса массой 3 г на уровне 0,005 мг/кг, что ниже ПДК указанных пестицидов в рисе. При необходимости предел обнаружения может быть дополнительно снижен путём объединения экстрактов параллельно экстрагируемых образцов одной и той же пробы, увеличением аналитической навески, а также дополнительным концентрированием экстракта перед этапом хроматографического исследования.

В качестве иллюстрации к разработанной методике пробоподготовки риса на рис. 2 (см. на вклейке) дополнительно представлена фотофиксация отдельных её этапов.

## Обсуждение

Необходимость предварительной подготовки пробы риса к этапу физико-химического исследования обусловлена мешающим влиянием на газохроматографическое определение соэкстрактивных природных компонентов, особенно углеводного и белкового характера [9]. Например, в ГОСТ 31481–2012 для извлечения хлорорганических пестицидов из анализируемой навески зерна с целью устранения балласта этих химических веществ применяют дистилляцию с водяным паром в специальном аппарате из стекла для экстракции и очистки экстрактов пестицидов (АПЛ) в сочетании с жидкостной экстракцией гексаном. Данная процедура занимает много времени и требует постоянного присутствия оператора для контроля и регулирования процесса. Следует отметить, что такая технология извлечения аналитов не является безопасной, поскольку выделяемые токсиканты намеренно переводят в летучее состояние. Кроме того, трудоёмкость дополнительно усугубляется и тем, что для следующей пробы применяемый дистилляционный аппарат необходимо разобрать, тщательно отмыть, обработать и проверить на отсутствие следов определяемых веществ после предыдущего анализа. Данное обстоятельство, несмотря на сопоставимость материальных затрат на реактивы в сравнении с методом ЭВЦ (табл. 1), не даёт ему преимуществ перед методикой, предлагаемой в настоящей работе.

Таблица 1 / Table 1

Перечень реактивов и ориентировочная стоимость затрат при определении ХОП в рисе различными методами пробоподготовки в расчёте на одну пробу

The list and estimated cost of reagents for the determination of OChPs in rice by various sample preparation methods per sample

| Реактив<br>Chemicals                                                                                                                                                                  | ГОСТ 31481–2012*<br>г, мл   g, mL | ГОСТ 32194–2013**<br>г, мл   g, mL | РСХН<br>г, мл   g, mL | ЭВЦ   EFC<br>г, мл   g, mL |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------|----------------------------|
| CH <sub>3</sub> CN                                                                                                                                                                    |                                   |                                    | 10.04                 | 3,5                        |
| C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>                                                                                                                                                        | 13                                | 105                                | 2                     | 0,2                        |
| (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO                                                                                                                                                    |                                   | 250                                |                       |                            |
| (C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> O                                                                                                                                       |                                   |                                    |                       | 0,5                        |
| CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>                                                                                                                                                       |                                   | 230                                |                       |                            |
| HCOOH                                                                                                                                                                                 |                                   |                                    | 0.002                 |                            |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (концентрированная   concentrated)                                                                                                                     | 5                                 |                                    |                       | 0,1                        |
| MgSO <sub>4</sub>                                                                                                                                                                     |                                   |                                    | 4.6                   |                            |
| Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                                                                                                                                                       | 5                                 | 20                                 |                       |                            |
| NaCl                                                                                                                                                                                  |                                   | 20                                 | 1                     |                            |
| C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>7</sub> · 2H <sub>2</sub> O трёхзамещённый цитрат натрия дигидрат<br>tri-substituted sodium citrate dihydrate                    |                                   |                                    | 1                     |                            |
| C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>7</sub> · 1,5H <sub>2</sub> O двухзамещённый цитрат натрия полуторагидрат<br>bisubstituted sodium citrate one and a half hydrate |                                   |                                    | 0.5                   |                            |
| Сорбент Bondesil-PSA   Bondesil-PSA sorbent                                                                                                                                           |                                   |                                    | 0.1                   |                            |
| Сорбент силикагель 60 (63–200 мкм)   Sorbent silica gel 60 (63–200 microns)                                                                                                           |                                   | 5                                  | 0.1                   |                            |
| Стоимость, руб./проба   Cost, RUB/sample                                                                                                                                              | 18                                | 613                                | 364                   | 13                         |

Примечание. \* — применяют аппарат из стекла АПЛ для экстракции и очистки экстрактов пестицидов, делительную воронку и ротационный испаритель; \*\* — применяют фильтрование ацетонового экстракта на установке Бюхнера, переэкстракцию в дихлорметан, колоночную очистку на силикагеле и ротационный испаритель.

Note: \* — there are used glass apparatus APL for the extraction and purification of pesticide extracts, a dividing funnel and a rotary evaporator; \*\* — acetone extract filtration at the Buchner-apparatus, re-extraction into dichloromethane, silica gel column cleaning and a rotary evaporator are used.

Согласно другому методу (ГОСТ 32194–2013), для устранения природного фона соэкстрактивных веществ получаемый ацетоновый экстракт из риса подвергают переэкстракции в дихлорметан с последующей колоночной очисткой на силикагеле. В данной пробоподготовке все этапы процедуры довольно трудозатратны и требуют специальной подготовки оператора. Помимо этого, как следует из табл. 1, расходуется значительное количество растворителей (ацетон, гексан, дихлорметан), реактивов и расходных материалов. Кроме того, необходим постоянный контроль качества применяемых реактивов.

Примерно двадцать лет назад был предложен и нашёл широкое распространение за рубежом [10], а затем и в России ещё один метод пробоподготовки, получивший название QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe — быстро, просто, дешево, эффективно, надёжно и безопасно). Этот метод напрямую [5], а также в некоторых вариациях (методика Россельхознадзора<sup>1)</sup>) рекомендуется и сейчас в Российской Федерации при определении ХОП в рисе. Однако в настоящее время стоимость комплекта QuEChERS (VetexQ) для анализа 25 проб превышает 14 тыс. рублей, то есть более 550 руб./проба. Сравнительно большой набор реактивов для исследования пробы риса по этой методике, как видно из табл. 1, также требует значительных затрат в отличие от метода ЭВЦ, разработанного в результате настоящего исследования.

Следует заметить, что предложенную процедуру пробоподготовки анализа риса можно было бы сократить и ограничиться только одним этапом ЭВЦ с упариванием (концентрированием) полученного ацетонитрил-этоксигексанового экстракта в необходимое количество крат, поскольку его масса составляет  $1,45 \pm 0,05$  г, то есть более 1,5 мл. Одна-

ко, как видно из сравнения хроматограмм, представленных на рис. 3 и 4 (см. на вклейке), применение стадии сернокислотной очистки с предварительным упариванием экстракта и растворением его в гексане приводит к практически полному устранению хроматографического фона соэкстрактивных веществ.

На наш взгляд, это даёт возможность не только более надёжно идентифицировать хлорорганические пестициды, но и корректно проводить их количественное определение. Кроме того, выполнение указанной стадии в режиме экстракционного вымораживания при температуре минус 30 °C более выгодно, чем в варианте жидкость-жидкостной экстракции [11], после которой гексановый экстракт тщательно освобождают от серной кислоты, неоднократно промывая раствором соды и воды с последующим обезвоживанием. В разработанной нами методике очищаемый от балласта соэкстрактивных компонентов с помощью ЭВ незамерзающий в этих условиях гексановый экстракт без каких-либо затруднений декантируют с затвердевшего слоя серной кислоты, чётко выделяющегося буро-коричневым цветом (см. рис. 2). Как показывает универсальная индикаторная бумага, экстракт не содержит следов кислоты. Вода в экстракте при такой низкой температуре также практически отсутствует (менее 0,01% [12]), следовательно, очищенный данным способом гексановый экстракт сразу может быть подвергнут ГХ-исследованию.

Разработанный метод протестирован участием в межлабораторных сличительных испытаниях в 2023 г. по определению показателей качества и безопасности программы МСИ № КР-2023/1/2 «Крупа, мука грубого помола, гранулы и прочие продукты из зерновых культур (рис)», осуществлённой провайдером МСИ Автономной некоммерческой

Таблица 2 / Table 2

**Результаты участия лаборатории в межлабораторных сличительных испытаниях в 2023 г. по определению показателей качества и безопасности программы КР-2023/1/2 «Крупа, мука грубого помола, гранулы и прочие продукты из зерновых культур (рис)»**

The results of the participation of the Laboratory in interlaboratory comparison tests in 2023 to determine the quality and safety parameters of the KR-2023/1/2 program "Cereals, coarse flour, granules, and other products from cereals (rice)"

| Определяемый показатель (пестицид)<br>Detected analyte (pesticide) | Объект МСИ-КР-2023/1/2/Х, МСИ-КР-2023/1/2/П   Object MSI-GR-2023/1/2/Х, MSI-GR-2023/1/2/П |                                    |                                     |                                                         |
|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------|
|                                                                    | Образец контроля МСИ-КР-2023/1/2   Control sample MSI-GR-2023/1/2                         |                                    |                                     |                                                         |
|                                                                    | Приписанное значение, X<br>Assigned value, X                                              | Результат испытаний<br>Test result | Значение Z-индекса<br>Z-index value | Оценка результатов испытания<br>Test results evaluation |
| 4,4-ДДЭ, мкг/кг   4,4-DDE, μ/kg                                    | 42.14                                                                                     | 34.00                              | −0.6                                | Удовлетворительно   Acceptable                          |
| 4,4-ДДД, мкг/кг   4,4-DDD, μ/kg                                    | 48.76                                                                                     | 37.00                              | −0.9                                | Удовлетворительно   Acceptable                          |
| гамма-ГХЦГ, мкг/кг   γ-НССН, μ/kg                                  | 56.03                                                                                     | 41.00                              | −0.8                                | Удовлетворительно   Acceptable                          |
| альфа-ГХЦГ, мкг/кг   α-НССН, μ/kg                                  | —                                                                                         | —                                  | —                                   | Удовлетворительно   Acceptable                          |
| бета-ГХЦГ, мкг/кг   β-НССН, μ/kg                                   | —                                                                                         | —                                  | —                                   | Удовлетворительно   Acceptable                          |
| 4,4-ДДТ, мкг/кг   4,4-DDT, μ/kg                                    | —                                                                                         | —                                  | —                                   | Удовлетворительно   Acceptable                          |

организацией «РОССИЙСКАЯ СИСТЕМА КАЧЕСТВА (РОСКАЧЕСТВО)» уникальный номер записи об аккредитации в реестре аккредитованных лиц RA.RU.430279. Результаты представлены в табл. 2.

Удовлетворительное соответствие результата определения ХОП приписанным значениям в представленном образце и холостых пробах риса свидетельствует о том, что предлагаемый метод отвечает требованиям точности. Как следует из табл. 2, абсолютное значение Z-индекса, используемого в программе критерия качества выполненных измерений, не превысило 1.

К ограничениям разработанной методики пробоподготовки, по-видимому, следует отнести отсутствие возможности применения экстрагентов с плотностью, превышающей плотность воды, то есть более 1 г/мл, например, традиционно используемых в химическом анализе галогенсодержащих метанов. Это связано со спецификой предлагаемой технологической схемы, основанной на формировании жидкой фазы получаемого в результате ЭВЦ экстракта на поверхности затвердевшей водосодержащей матрицы. Кроме того, дополнительным важным требованием к экстрагенту является минимальная растворимость в нём воды. Таким образом, перспектива развития метода ЭВЦ связана с устранением недостатков, в том числе и указанных выше.

## Заключение

Разработана методика быстрого количественного определения хлорорганических пестицидов и их метаболитов в зерновом рисе. Предварительная подготовка проб к газохроматографическому исследованию основана на способе экстракционного вымораживания в условиях центрифугирования образца.

Для устранения мешающего влияния соэкстрактивных веществ дополнительно предусмотрен этап сернокислотной очистки. За счёт простоты и скорости пробоподготовки общее время анализа одной пробы не превышает 1,5 ч, из которых этап подготовки пробы занимает менее 1 ч. Метод отвечает требованиям санитарно-гигиенического контроля по пределу обнаружения, обеспечивая определение ДДТ, ДДД, ДДЭ и изомеров ГХЦГ ниже установленной ПДК. Обладает высокой сходимостью в параллельных определениях, относительная погрешность не превышает 20%. Перспективы применения разработанной методики анализа связаны с расширением спектра определяемых токсикантов.

Выгодные качества и преимущества предложенного метода анализа:

- исключены занимающие значительное время манипуляции с пробой и экстрактом, связанные с фильтрованием, обезвоживанием и пр.;
- процедура проста, отсутствуют дополнительные требования к квалификации специалиста;
- невысокая стоимость расходных материалов, химической посуды и реактивов (отсутствие осушителей, фильтров, дополнительных материалов);
- гармонирует с требованиями «зелёной химии», так как отсутствует необходимость специальной утилизации полимерных материалов и иных отходов в отличие, например, от твердофазной экстракции; объём экстрагента минимален;
- пробоподготовка к этапу газохроматографического определения выполняется при отрицательных температурах, что улучшает условия труда, уменьшая летучесть растворителей и компонентов исследуемой пробы.

## Литература

(п.п. 3, 5, 7, 10, 12 см. References)

1. Ракитский В.Н., Федорова Н.Е., Егорченкова О.Е., Гречина М.С., Суслова А.В. Безопасность сельскохозяйственной продукции: многокомпонентное определение остаточных количеств пестицидов в зерне. *Гигиена и санитария*. 2020; 99(9): 968–74. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-9-968-974> <https://elibrary.ru/gflwlu>
2. Мельников Н.Н. *Пестициды. Химия, технология и применение*. М.: Химия; 1987.
3. Ракитский В.Н. Токсикология пестицидов. *Токсикологический вестник*. 2010; (3): 21–3. <https://elibrary.ru/tqtxen>
4. Бехтерев В.Н. Способ извлечения органических веществ из водных сред экстракционным вымораживанием в поле центробежных сил. Патент РФ № 2564999; 2015. <https://elibrary.ru/wbmtje>
5. Бехтерев В.Н. Экстракционное вымораживание с центрифугированием — новая технология пробоподготовки в химическом анализе на примере органических оснований. *Журнал аналитической химии*. 2021; 76(9): 859–64. <https://doi.org/10.31857/S0044450221090024> <https://elibrary.ru/ixylna>
6. Скурихин И.М., Тутельян В.А. *Таблицы химического состава и калорийности российских продуктов питания*. М.: ДеЛи принт, 2007. <https://elibrary.ru/qnguut>
7. Клисенко М.А., Калинина А.А., Новикова К.Ф., Хохолькова Г.А. *Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. Том 1*. М.: Колос; 1992: 38–42.

## References

1. 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): 968–74. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-9-968-974> <https://elibrary.ru/gflwu> (in Russian)
2. Mel'nikov N.N. *Pesticides. Chemistry, Technology and Application [Pestitsidy. Khimiya, tekhnologiya i primeneniye]*. Moscow: Khimiya; 1987. (in Russian)
3. van den Berg H., Manuweera G., Konradsen F. Global trends in the production and use of DDT for control of malaria and other vector-borne diseases. *Malar. J.* 2017; 16(1): 401. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-2050-2>
4. Rakitsky V.N. Toxicology of pesticides. *Toksikologicheskii vestnik*. 2010; (3): 21–3. <https://elibrary.ru/tqtxen> (in Russian)
5. Chung S.W., Chen B.L. Determination of organochlorine pesticide residues in fatty foods: a critical review on the analytical methods and their testing capabilities. *J. Chromatogr. A*. 2011; 1218(33): 5555–67. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.06.066>
6. Bekhterev V.N. Method of extracting organic substances from aqueous media by extraction freezing in centrifugal force field. Patent RF № 2564999; 2015. <https://elibrary.ru/wbmtje> (in Russian)
7. Bekhterev V.N. A method of recovery of organic substances from aqueous media by freeze-out extraction under the action of centrifugal force. Patent EPO No. 3357873; 2019.
8. Bekhterev V.N. Extractive freezing-out with centrifugation is a new technology of sample preparation in chemical analysis using the example of organic bases. *J. Anal. Chem.* 2021; 76(9): 1106–10. <https://doi.org/10.1134/S1061934821090021> <https://elibrary.ru/okaty1>
9. Skurikhin I.M., Tutel'yan V.A. *Tables of Chemical Composition and Caloric Content of Russian Food Products [Tablitsy khimicheskogo sostava i kaloriinosti rossiiskikh produktov pitaniya]*. Moscow: DeLi Print; 2007. <https://elibrary.ru/qnguut> (in Russian)
10. 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.
11. Klisenko M.A., Kalinina A.A., Novikova K.F., Khokholkova G.A. *Methods for Determining Trace Amounts of Pesticides in Food, Feed and the Environment. Volume 1 [Metody opredeleniya mikrokolichestv pestitsidov v produktakh pitaniya, kormakh i vnesheinei srede. Tom 1]*. Moscow: Kolos; 1992: 38–42. (in Russian)
12. Chang H., Zhong F., Cao R., Liu Y., Wang M., Pu X. Prediction of the solubilities of water in hydrocarbons with COSMO-RS and interpretation of the solubility characteristics. *J. Solution Chem.* 2020; 49(3): 365–82. <https://doi.org/10.1007/s10953-020-00966-4>

## Сведения об авторах

**Бехтерев Виктор Николаевич**, доктор хим. наук, химик-эксперт санитарно-гигиенической лаб., Сочинский филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае», 354000, Сочи, Россия. E-mail: vic-bekhterev@yandex.ru

**Мищенко Ирина Витальевна**, зав. санитарно-гигиенической лаб., Сочинский филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае», 354000, Сочи, Россия. E-mail: sochi\_fguz\_lab@mail.ru

**Комарова Наталья Сергеевна**, главный врач, Сочинский филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае», 354000, Сочи, Россия. E-mail: sochi\_fguz\_lab@mail.ru

## Information about the authors

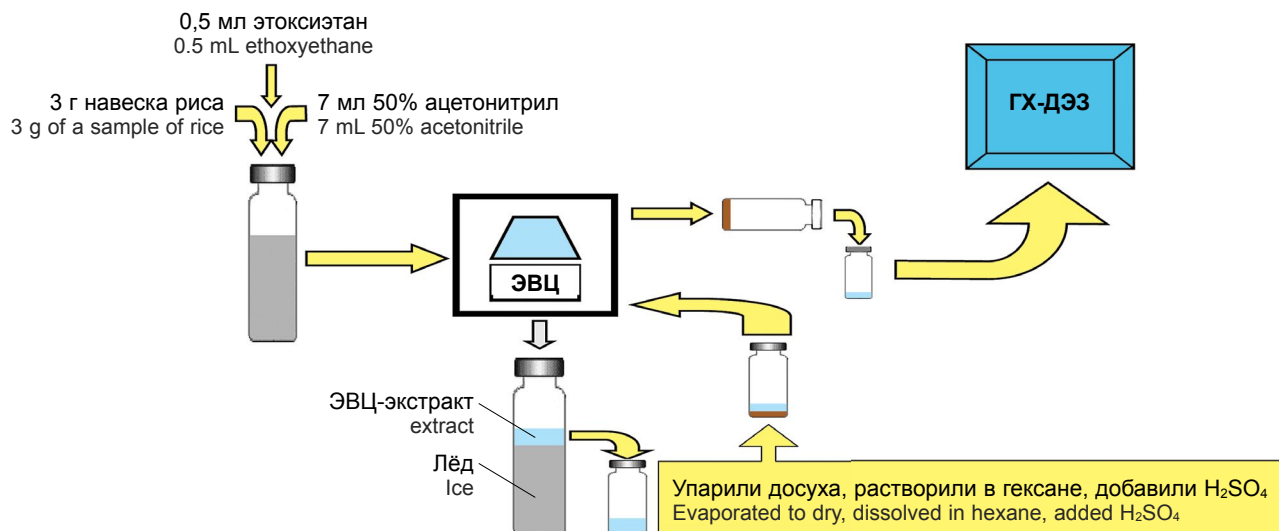
**Viktor N. Bekhterev**, DSc (Chemistry), Chemical Expert, Sochi Branch of the Center for Hygiene and Epidemiology for the Krasnodar Territory, Sochi, 354000, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-5816-9624> E-mail: vic-bekhterev@yandex.ru

**Irina V. Mishchenko**, Head of the Sanitary and Hygienic Laboratory, Sochi Branch of the Center for Hygiene and Epidemiology for the Krasnodar Territory, Sochi, 354000, Russian Federation, E-mail: sochi\_fguz\_lab@mail.ru

**Natalia S. Komarova**, Chief Physician, Sochi Branch of the Center for Hygiene and Epidemiology in the Krasnodar Territory, Sochi, 354000, Russian Federation, E-mail: sochi\_fguz@mail.ru

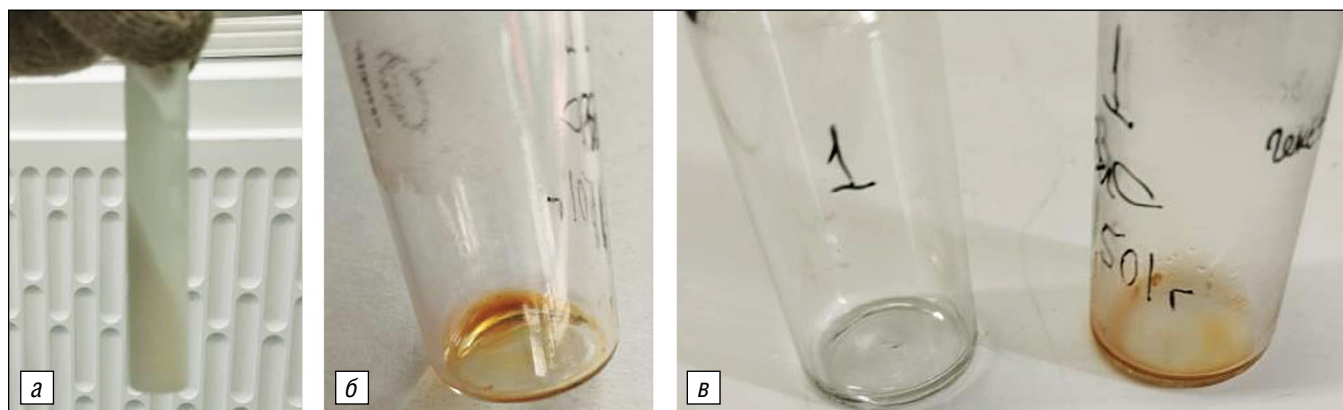
**К статье В.Н. Бехтерева и соавт.**  
*To the article by Viktor N. Bekhterev et al.*

**Схема анализа / Analysis scheme**



**Рис. 1.** Схема методики определения остаточных количеств ХОП в рисе с помощью экстракционного вымораживания и дополнительной сернокислотной очисткой экстракта. ЭВЦ – экстракционное вымораживание, в том числе в режиме центрифугирования; ГХ-ЭЗД – газовый хроматограф с электрозахватным детектором.

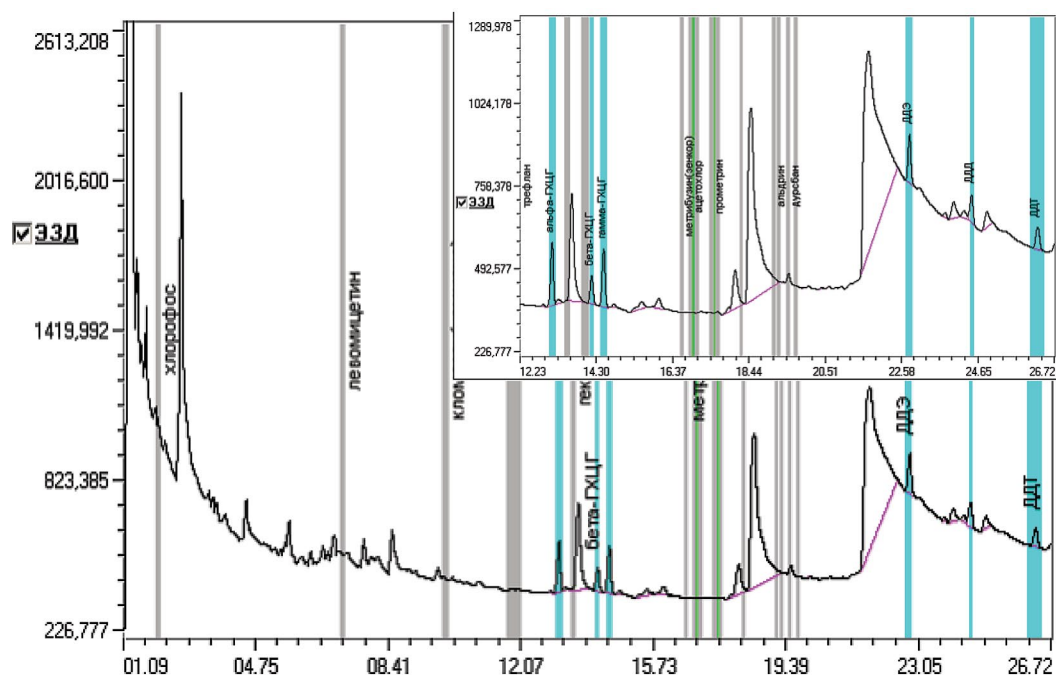
**Fig. 1.** The scheme of the method for detecting the residual amounts of organochlorine pesticides (OChPs) in rice using extractive freezing-out and additional sulfuric acid purification of the extract. ЭВЦ – extraction freezing, including in the centrifugation mode. ГХ-ЭЗД – gas chromatograph with electron capture detector.



**Рис. 2.** Фотографии отдельных этапов проведения ЭВЦ-извлечения ХОП из пробы риса и стадии сернокислотной очистки экстракта от соэкстрактивных компонентов перед газохроматографическим определением: а – ЭВЦ-экстракт риса (ацетонитрил + эфир); б – ЭВЦ-экстракт риса, упаренный и растворённый в гексане, с добавкой серной кислоты; в – очищенный гексановый экстракт (слева) и сернокислотная часть образца после ЭВ (справа).

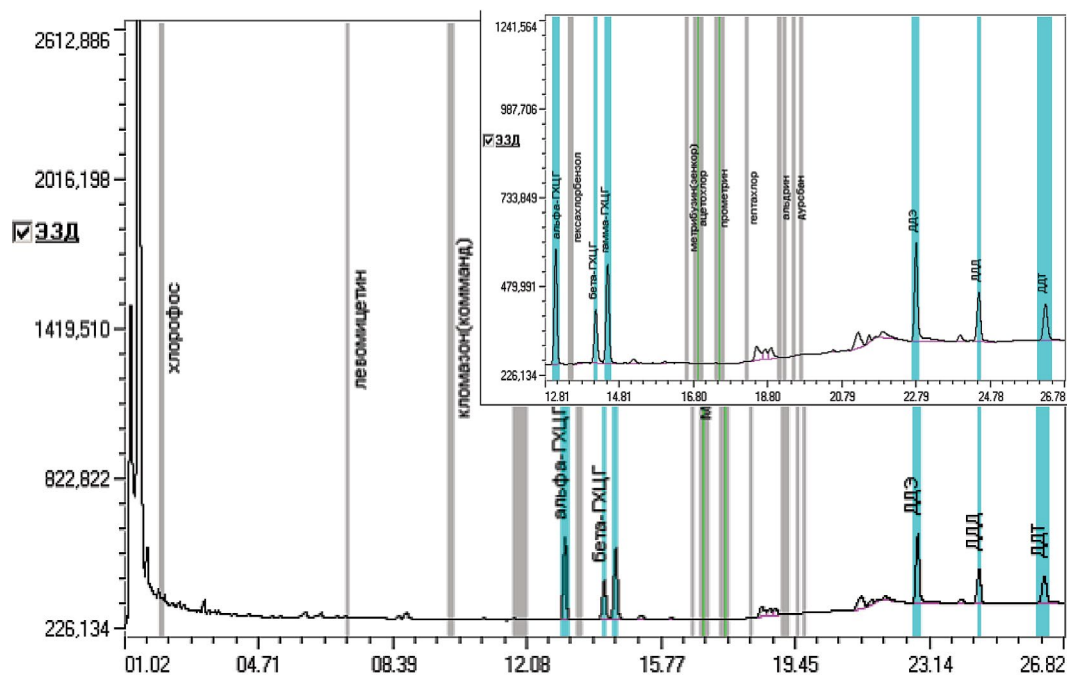
**Fig. 2.** Photographs of certain stages of EFC-extraction of OChPs from a rice sample and the stage of sulfuric acid purification of the extract from co-extractive components before gas chromatographic determination: а – EFC-rice extract (acetonitrile+ether); б – EFC-rice extract, evaporated and dissolved in hexane, with the addition of sulfuric acid; в – purified hexane extract (left) and sulfuric acid part of the sample after EF (right).

**К статье В.Н. Бехтерева и соавт.**  
*To the article by Viktor N. Bekhterev et al.*



**Рис. 3.** Хроматограмма экстракта пробы риса, полученного однократной процедурой ЭВЦ с добавкой ДДТ, ДДЭ, ДДД и изомеров ГХЦГ (содержание 0,03 мг/кг каждого) и упаренного в четыре раза в токе воздуха без стадии сернокислотной очистки от соэкстрактивных веществ.

**Fig. 3.** Chromatogram of an extract of a rice sample obtained by a single EFC procedure with the addition of DDT, DDE, DDD, and HCH isomers (content 0.03 mg/kg each) and evaporated four times in an air stream without a stage of sulfuric acid purification from co-extractive substances.



**Рис. 4.** Хроматограмма гексанового экстракта пробы риса, полученного в согласно разработанной методике с однократной процедурой ЭВЦ с добавкой ДДТ, ДДЭ, ДДД и изомеров ГХЦГ (содержание 0,03 мг/кг каждого), включая стадию сернокислотной очистки от соэкстрактивных веществ.

**Fig. 4.** Chromatogram of the hexane extract of a rice sample obtained in accordance with the developed method with a single EFC procedure with the addition of DDT, DDE, DDD and HCH isomers (content 0.03 mg/kg each), including the stage of sulfuric acid purification from co-extractive substances.