

Д.Н. Соболев

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ МЕТРИБУЗИНА В КОРИАНДРЕ

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

Резюме. В настоящей работе представлены результаты исследования по разработке метода измерения остаточных количеств метрибузина в семенах кориандра, обоснован выбор QuEChERS как метода для пробоподготовки. Процедура пробоподготовки включает этапы: предварительное добавление воды в образец, экстракцию ацетонитрилом, содержащим 1% уксусной кислоты, в присутствии MgSO₄ и NaCl, очистку дисперсионной твердофазной экстракцией с применением смеси сорбентов на основе первично-вторичного амина, октадецилсилана и графитизированной сажи.

Содержание пестицида анализировали методом капиллярной газо-жидкостной хроматографии с масс-селективным детектором (тип ионизации – электронный удар). Диапазон определяемых концентраций: 0,01-0,1 мг/кг, среднее квадратичное отклонение варьирует в диапазоне 1,31-3,49%.

Ключевые слова: газовая хроматография, масс-спектрометрия, пестициды, QuEChERS.

Актуальность. Пестициды являются контаминантами культурных растений, осознанно вносимыми человеком в экосистемы, а, следовательно, требуют особенно тщательного внимания со стороны человека. На территории Российской Федерации контроль содержания пестицидов в сельскохозяйственной продукции проводится в соответствии с официальными нормативно-методическими документами, в частности, методическими указаниями (МУ, МУК). При расширении списка разрешенных для использования на территории России пестицидов проводится разработка методов определения остаточных количеств [5].

Метрибузин – гербицид избирательного действия [8]. Применяется для борьбы с однолетними двудольными и злаковыми сорняками в посадках томатов, картофеля, розы эфиромасличной, люцерны 2-го года вегетации.

Метрибузин относится к химическому классу триазинонов. Эти гербициды отличаются широким спектром действия на ряд двудольных и злаковых сорняков. Препараты данной группы обладают продолжительным эффектом, поскольку действуют как через листья, так и через почву.

Установлено, что триазины и триазиноны разрушают хлоропласты. Механизм гербицидного действия основан на торможении реакции Хилла и блокировании фотолиза воды. Реакция Хилла – составная часть нециклического фотосинтетического фосфорилирования, ее угнетение полностью подавляет синтез АТФ в процессе фосфорилирования. При недостатке этих богатых энергией веществ может прекратиться ассимиляция углекислоты. Из-за угнетения дыхания в растении нарушается энергетический баланс. Помимо этого, под влиянием триазинов инактивируются ферменты, резко и необратимо нарушаются синтетические процессы в корнях, функции минерального питания, дыхание и водный обмен, что неизбежно

сказывается на общей жизнедеятельности растений и приводит к их гибели. Отсутствие разработанного метода определения остаточных количеств метрибузина в семенах кориандра определило актуальность данного исследования.

Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды включают МДУ метрибузина в картофеле – 0,25 мг/кг, в зерне кукурузы – 0,1 мг/кг, в бобах и масле сои – 0,1 мг/кг, в томатах – 0,25 мг/кг, ПДК в воздухе рабочей зоны – 1,0 мг/м³, ПДК в атмосферном воздухе – 0,003 мг/м³, ПДК в воде водоемов – 0,1 мг/дм³, ПДК в почве – 0,2 мг/кг, ДСД – 0,01 мг/кг [2].

За основу разработки метода определения метрибузина в кориандре взяты методические указания «Многоостаточное определение пестицидов различной химической природы в продукции растениеводства хроматографическими методами» МУК 4.1.3351-16, успешно использованные для определения действующих веществ в различных пищевых продуктах [1, 4]. В данных МУК установлен порядок определения массовых концентраций ряда действующих веществ пестицидов в продуктах растениеводства (томаты, виноград, картофель, морковь и другие). Все эти продукты относятся к одной репрезентативной группе №1 (высокое содержание воды) в соответствии с руководящим документом Европейской комиссии [7], что и позволило реализовать метод определения. Для матриц, относящихся к одной репрезентативной группе возможно использование одного метода пробоподготовки ввиду близкого процентного содержания жиров, белков, масел, воды. Этот документ так же предлагает возможность объединения репрезентативных групп между собой при соблюдении некоторых условий – например, продукты группы №3 (высокое содержание сахара + низкое содержание воды) возможно объединить с группой №1, если довести содержание воды в пробах до 70%. Кориандр можно отнести к группе №6 (сложные и уникальные продукты), но при этом он является продуктом с низким содержанием воды – всего 13% [3].

Для извлечения пестицидов из проб использован широко известный метод QuEChERS (официальный метод анализа пестицидов, принятый Европейским Союзом и Ассоциацией аналитических сообществ (АОАС)) [7]. Этот метод лишен таких недостатков традиционных методов пробоподготовки, как продолжительная процедура извлечения, использование вредных и дорогостоящих растворителей, а также значительно упрощает анализ остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах. Подход QuEChERS направлен на устранение компонентов матриц, которые можно разделить на различные категории в зависимости от пигментации и количества жиров и влаги в пробе [6]. Основные этапы QuEChERS:

Экстракция. Этот процесс основан на комбинации органического растворителя и различных солей, а также добавлении воды (при необходимости) для выделения аналитов из пробы пищевых продуктов в органическом слое (обычно ацетонитрил).

Очистка. Аликвота, отобранная из органического слоя на этапе экстракции, подвергается дальнейшей очистке с помощью дисперсионной ТФЭ (дТФЭ). Этот шаг избирательно удаляет нежелательные примеси, такие как липиды и пигменты.

В итоге совокупность всех этих фактов предполагает возможность использования метода определения метрибузина в моркови для кориандра, с учетом соблюдения дополнительных требований – добавление воды для увеличения уровня содержания влаги в пробе, что и стало целью данного исследования.

Материал и методы исследования. В качестве объектов исследования использовали семена кориандра, отобранные во второй и третьей почвенно-климатических зонах для определения остаточных количеств метрибузина.

Использованы аналитический стандартный образец метрибузина фирмы “Bayer CropScience AG”, вода, уксусная кислота, ацетонитрил, фирмы Panreac (Испания). При пробоподготовке применяли оригинальную смесь солей для экстракции (Agilent Bond Elut., кат. № 5982-5550), смесь сорбентов для дисперсионной твердофазной экстракции в полипропиленовой пробирке на 2 мл (кат. № 5982-5421).

Для приготовления основного градуировочного раствора с концентрацией 100 мкг/см³ и раствора для внесения в модельные пробы с концентрацией 1,0 мкг/см³ использован ацетон. Рабочие растворы метрибузина для градуировки с концентрациями 0,01-0,1 мкг/см³ готовили разбавлением ацетоном градуировочного раствора с концентрацией 1,0 мкг/см³. Для приготовления модельных проб с внесением вещества использован раствор метрибузина в ацетоне, концентрация 1,0 мкг/см³, объем аликвоты 0,1, 0,2, 0,5 и 1 см³.

Пробоподготовка образцов. На основе рекомендаций Европейского документа [7] и МУК 4.1.3351-16 [4] была составлена схема анализа для кориандра – гомогенизированные пробы помещают в центрифужную полипропиленовую пробирку вместимостью 50 см³, вносят 13 см³ (так же был проведен анализ образцов с добавлением 5 и 20 см³) воды и 10 см³ 1% раствора уксусной кислоты в ацетонитриле, интенсивно встряхивают вручную 30 сек, вносят в пробирку смесь солей для экстракции, закрывают крышкой и снова интенсивно встряхивают (вручную) в течение 1 мин. Затем пробу центрифугируют в течение 5 мин при скорости вращения 4000 оборотов/мин и подвергают очистке с применением дисперсионной твердофазной экстракции: надосадочную жидкость (верхний слой в пробирке после центрифугирования) объемом 1,5-1,8 см³ с помощью пипетки переносят в полипропиленовую центрифужную пробирку, содержащую смесь сорбентов для дТФЭ. Закрывают крышку и интенсивно встряхивают вручную в течение 30 сек. Центрифугируют 15 мин при скорости вращения 4000 оборотов/мин. Отбирают с помощью медицинского шприца раствор, фильтруют через мембранный фильтр (размер пор 0,22 мкм) в стеклянную вialу на 1,5 см³.

Условия хроматографирования. В исследованиях использован хромато-масс-спектрометр «Agilent 5977A» с газовым хроматографом «Agilent 7890B», США (номер в Государственном реестре средств измерений 54266-13) и капиллярной колонкой HP-5MS UI (30м*0,25мм*0,25мкм). Температура детектора: квадруполь - 150°C, источника - 230 °C, переходной камеры - 280°C, температура испарителя: 250°C. Температура термостата колонки программированная: начальная температура – 140°C,

выдержка 1 мин, нагрев колонки со скоростью 5 градусов в минуту до температуры 185°C, выдержка 5 мин, затем нагрев колонки со скоростью 20 градусов в минуту до температуры 250°C, выдержка 2 мин. Поток газа-носителя в колонке – 1,3 см³/мин. Ориентировочное время удерживания метрибузина – 12,0 мин. Для МСД-идентификации был использован режим регистрации индивидуальных ионов (SIM), ионы (отношение: масса/заряд): 198 (количественный расчет), 103, 144.

Полученные результаты и их обсуждение. В соответствии с целями исследования проанализирована возможность использования МУК для определения остаточных количеств метрибузина в кориандре с учетом рекомендаций [6]. В случае, если продукты из группы №3 смешиваются с водой, то при достижении 70% содержания воды в пробе продукт можно отнести к группе №1, при этом предел обнаружения должен быть установлен для навесок меньшей величины. Вместе с тем уменьшить величину навески не представлялось возможным, поскольку поставлена задача достичь предел обнаружения 0,01 мг/кг. В избранных условиях хроматографирования минимальная концентрация аналитического стандарта составляет 0,01 мкг/см³. Для получения 70% содержания влаги к 10 г кориандра необходимо добавить 20 см³ воды, что негативно влияет на процесс пробоподготовки – для методики QuEChERS используются стандартные пробирки на 50 см³, 10 см³ экстрагента – ацетонитрила и 5 г смеси солей (MgSO₄ и NaCl, 4:1) – работа с таким большим объемом водного растворителя негативно скажется на полноте извлечения метрибузина. Была проведена серия экспериментов с внесением на стадии пробоподготовки – разных количеств воды: 5, 13 и 20 см³, достигнутое содержание влаги в пробе: 42%, 62% и 71%, соответственно (при содержании в кориандре 13% влаги [6]). Результаты (табл.) показывают, что оптимальное для экстракции содержание влаги в пробе – 60%, так же установлено, что малый объем добавленной воды негативно влияет на степень извлечения вещества из матрицы, а излишнее количество воды дополнительно сказывается на прецизионности.

Достигнутый предел обнаружения в кориандре: 0,01-0,1 мг/кг. Градуировочная характеристика, выражающая линейные (с угловым коэффициентом) зависимости площадей хроматографических пиков метрибузина от его концентрации в растворе, построены в диапазоне 0,01-0,1 мкг/см³, соотношение сигнал-шум на пределе обнаружения 25:1, коэффициент корреляции – более 0,99691. Для обеспечения точности, правильности и прецизионности результатов анализа в процессе измерений проведена метрологическая оценка погрешности результатов количественного химического анализа. Для оценки достоверности определения вещества в пробе использовали метод добавок («внесено-найден»), позволяющий достичь более точного количественного определения и исключить влияние матричной основы на величину аналитического сигнала.

Таблица

Полнота извлечения метрибузина

Номер пробы	Объём добавки см ³		
	5	13	20
Проба 1	60	96	85
Проба 2	65	95	102
Проба 3	63	97	83

Выводы. Результатом аналитических исследований является метод определения остаточных количеств метрибузина в семенах кориандра с помощью капиллярной газожидкостной хроматографии с масс-селективным детектором, имеющий нижний предел количественного измерения 0,01 мг/кг, предназначенный для химико-аналитического обеспечения контроля безопасности сельскохозяйственной продукции при расширении сферы применения пестицидных препаратов, содержащих метрибузин.

Литература.

1. Баюшева В.В. Валидация метода определения остаточных количеств тиаметоксама и его метаболита клотианидина в пищевых продуктах методом tandemной масс-спектрометрии ВЭЖХ-МС/МС с использованием QuEChERS // Современные проблемы эпидемиологии и гигиены: материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора. 2016. С. 35-36.
2. ГН 1.2.3111-13. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень): Гигиенические нормативы: - М: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014.
3. ГОСТ 29055-91. Пряности. Кориандр. Технические условия – Москва: Изд-во стандартов, 1993.
4. Многоостаточное определение пестицидов различной химической природы в продукции растениеводства хроматографическими методами: МУК 4.1.3351-16 (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 10.03.2016 – М.: 2016.
5. Справочник пестицидов и агрохимикатов разрешенных к применению на территории Российской Федерации, 2017. Версия 1.2 (26.12.2016). М.: АГРОПУС, 2016: С. 218.
6. AOAC Official Method 2007.01, Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate, 2007: [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.weber.hu/PDFs/QuEChERS/AOAC_2007_01.pdf (дата обращения: 10.03.2018)
7. SANTE/11813/2017 Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed. – 01.01.2018: [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf (дата обращения: 10.03.2018)
8. The Pesticide Manual. 17th Edition, Editor C. MacBean, BCPS, 7 Omni Business Centre, Omega Park, Alton, Hampshire, GU34 2QD, UK. 2017: [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://bcpcdata.com/_assets/files/PM16-supplementary-BCPC.pdf (дата обращения: 10.03.2018)

Abstract.

D.N. Sobolev

DETERMINATION OF METRIBUZINE RESIDUES IN CORIANDER

Federal Scientific Center of Hygiene named after F. F. Erisman, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Mytishchi, Moscow region, Russia

Here presented the results of research on the development of methods for the determination of metribuzine residues in coriander seeds, and the choice of QuEChERS as a method for sample preparation is justified. Sample preparation procedure includes the steps of: pre-adding water to the sample, extraction with acetonitrile containing 1% acetic acid in the presence of MgSO₄ and NaCl, purification by dispersive solid-phase extraction using a mixture of sorbents based on the primary amine, octadecylsilane and graphitized carbon.

The content of the pesticide was analyzed by capillary gas chromatography with a mass-selective detector. The range of detectable concentrations is 0,01-0,1 mg/kg, the standard deviation varies in the range of 1,31-3,49%.

Keywords: gas chromatography, mass spectrometry, pesticides, QuEChERS.

References.

1. Bayusheva V.V. Validation of the method for determination of residual amounts of thiamethoxam and its metabolite clothianidine in food products using the HPLC-MS/MS tandem mass spectrometer using QuEChERS // Modern problems of epidemiology and hygiene: materials of the VIII All-Russian Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists of Rospotrebnadzor. 2016. P. 35-36. (in Russian)

2. GN 1.2.3111-13. Hygienic standards for the content of pesticides in environmental objects (list): Hygienic standards: - M: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2014: (in Russian)

3. GOST 29055-91. Spices. Coriander. Specifications - Moscow: Publishing Standards, 1993. - (in Russian)

4. Multi-purpose determination of pesticides of different chemical nature in crop production by chromatographic methods: MUK 4.1.3351-16 (approved by the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on March 10, 2016 - Moscow: 2016. (in Russian)

5. Directory of pesticides and agrochemicals allowed for use on the territory of the Russian Federation, 2017. Version 1.2 (26.12.2016). M.: AGRORUS, 2016: P. 218. (in Russian)

6. AOAC Official Method 2007.01, Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate, 2007. Available at http://www.weber.hu/PDFs/QuEChERS/AOAC_2007_01.pdf

7. SANTE/11813/2017 Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed, 2018. Available at: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf

8. The Pesticide Manual. 17th Edition, Editor C. MacBean, BCPS, 7 Omni Business Centre, Omega Park, Alton, Hampshire, GU34 2QD, UK. 2017. Available at: http://bcpcdata.com/_assets/files/PM16-supplementary-BCPC.pdf

Сведения об авторе: Соболев Дмитрий Николаевич – младший научный сотрудник ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, Мытищи, Московская область, Россия, analyt1@yandex.ru