

© ФЕДОРОВА Н.Е., ДОБРЕВА Н.И., 2024

Федорова Н.Е., Добрева Н.И.

Аналитический контроль остаточных количеств пестицидов в оценке безопасности пищевой продукции

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 141014, Московская область, г. Мытищи, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Достоверность результатов аналитического контроля напрямую связана с используемыми методами пробоподготовки и измерения. Подавление/усиление сигнала анализируемого вещества в присутствии компонентов матрицы является одной из основных проблем при анализе сложных образцов.

Цель исследования – оценка возможности применения различных подходов к калибровке при определении остаточных количеств хлорорганических пестицидов в пищевой продукции, предназначенной для детского питания.

Материал и методы. Объекты исследования – образцы продукции для детского питания, относящиеся к различным товарным группам. Предмет аналитического контроля – хлорорганические вещества, отнесённые к перечню пестицидов, запрещённых для использования при производстве пищевой продукции для детского питания. Измерения выполняли методом тандемной газовой хроматографии-масс-спектрометрии, пробоподготовку образцов – по методу QuEChERS.

Результаты. Сравнение данных, полученных при калибровке по внешнему стандарту на растворителе и при калибровке по внешнему стандарту, согласованному с матрицей, показывает, что оба варианта калибровки демонстрируют высокий коэффициент корреляции, тем не менее интенсивность сигналов на хроматограммах при матричной калибровке существенно выше для дильдрина, гексахлорбензола, гептахлора и его метаболита гептахлора эпоксида. В отношении альдрина значимое (более 20%) усиление сигнала отмечается только в плодоовощной продукции.

Ограничение исследования. Исследования выполнены на отдельных образцах пищевой продукции для детского питания, относящихся к ряду товарных групп.

Заключение. Усиление/подавление сигнала напрямую связано со структурой и физико-химическими свойствами вещества и характером анализируемой матрицы. Использование калибровки на растворителе может завышать результаты в десятки раз и приводить к необоснованным заключениям о несоответствии исследованной продукции требованиям безопасности.

Ключевые слова: аналитический контроль; хлорорганические пестициды; достоверность результатов; компенсация эффекта матрицы; сопряжённая с матрицей калибровка

Соблюдение этических стандартов. Исследование не требует одобрения комитета по биомедицинской этике или других документов.

Для цитирования: Федорова Н.Е., Добрева Н.И. Аналитический контроль остаточных количеств пестицидов в оценке безопасности пищевой продукции. *Токсикологический вестник*. 2024; 32(6): 364–370. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2024-32-6-364-370>

Для корреспонденции: Федорова Наталья Евгеньевна, e-mail: natali53fed@yandex.ru

Участие авторов. Все соавторы внесли равнозначный вклад в исследование и подготовку статьи к публикации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила в редакцию: 13 октября 2024 / Поступила после доработки: 29 октября 2024 / Принята в печать: 12 ноября 2024 / Опубликовано: 28 декабря 2024

Nataliya E. Fedorova, Nataliya I. Dobreva

Analytical control of pesticide residues in food safety assessment

Federal Budgetary Institution of Science "Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman" of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 141014, Mytishchi, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. The reliability of the analytical control results is directly related to the methods of sample preparation and measurement used. Suppression/amplification of the signal of the test substance in the presence of matrix components is one of the main problems in the analysis of complex samples.

The aim of the study was to evaluate the applicability of different calibration approaches in the determination of organochlorine pesticide residues in food products intended for baby food.

Material and methods. The objects of the study were samples of baby food products belonging to various product groups. The subject of analytical control was organochlorine substances included in the list of pesticides prohibited for use in the production of baby food products. The measurements were performed using the tandem gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS/MS) method, sample preparation was performed using the QuEChERS method.

Results. Comparison of data obtained by calibration using an external standard on a solvent and by calibration using an external standard matched to the matrix shows that both calibration options demonstrate a high correlation coefficient, however, the signal intensity on the chromatograms with matrix calibration is significantly higher for dieldrin, hexachlorobenzene, heptachlor, and its metabolite heptachlor epoxide. With respect to aldrin, a significant (more than 20%) signal increase is observed only in fruit and vegetable products.

Limitations. The study was conducted on individual samples of food products for baby food, belonging to a number of product groups.

Conclusion. Signal amplification/suppression is directly related to the structure and physical and chemical properties of the substance and the nature of the analyzed matrix. Using solvent calibration can overestimate the results by dozens of times and lead to unjustified conclusions about the non-compliance of the studied product with safety requirements.

Keywords: *analytical control; organochlorine pesticides; reliability of results; matrix effect compensation; matrix-coupled calibration*

Compliance with ethical standards. The study does not require the approval of the Biomedical ethics committee or other documents.

For citation: Fedorova N.E., Dobreva N.I. Analytical control of pesticide residues in food safety assessment. *Toxikologizheskiy vestnik / Toxicological Review*. 2024; 32(6): 364–370. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2024-32-6-364-370>

For correspondence: Nataliya E. Fedorova, e-mail: natali53fed@yandex.ru

Contribution of the authors. All co-authors made an equal contribution to the research and preparation of the article for publication.

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interests. Authors declare no conflict of interests.

Accepted: October 13, 2024 / Revised: October 29, 2024 / Accepted: November 12, 2024 / Published: December 28, 2024

Введение

При оценке безопасности пищевой продукции, произведённой с применением пестицидов, любые формы неверных результатов аналитического контроля (ложноположительные или ложноотрицательные) могут иметь негативные последствия как для экономики, в связи с убытками при недопуске продукции на рынок, так и для здоровья её потребителей, что лишний раз подчёркивает важность надёжной идентификации содержания ксенобиотиков в пищевых продуктах.

Достоверность результатов аналитического контроля напрямую связана с используемыми методами измерения и пробоподготовки, которые должны одновременно обеспечивать селективность, специфичность и высокую чувствительность при максимальной универсальности. Данным критериям соответствует перспективный современный метод хромато-масс-спектрометрии в сочетании с техническим решением пробоподготовки QuEChERS, которые незаменимы при мониторинге остаточных количеств пестицидов. Технология QuEChERS, несмотря на её универсальность и удобство, не позволяет в полной мере освободиться от мешающих измерению компонентов, что отражается на результатах анализа. Подавление/усиление сигнала анализируемого вещества в присутствии компонентов матрицы является одной из основных проблем при количественном анализе сложных образцов, не позволяющей использовать при количественных расчётах абсолютную калибровку на растворителе [1, 2]. Среди известных способов устранения или компенсации эффектов матрицы в качестве основных можно выделить следующие: 1 – высокая селективность процедуры экстракции; 2 – несколько ступеней очистки экстрактов; 3 – уменьшение навески образца; 4 – уменьшенные количества вводимой пробы (разведение); 5 – использование калибровки, компенсирующей эффекты матрицы: использование внутреннего стандарта (меченые изотопами стандарты) и матричной калибровки.

Первые 3 приёма нацелены на уменьшение количества компонентов матрицы, поступающих в МС-детектор одновременно с анализируемым веществом. При этом применение более селективной процедуры экстракции или более тщательной очистки образца способствуют не только повышению трудозатрат, но и увеличивают риск потери аналитов. Уменьшение количества вводимой пробы при разведении образца также может дать снижение эффекта матрицы, однако при

анализе следовых количеств этот приём нельзя отнести к предпочтительным.

Если эффект матрицы не удаётся устранить, рекомендуется его компенсировать, применяя соответствующий способ калибровки [3, 4]. В направлении компенсации эффекта матрицы следует остановиться на внутренних стандартах с изотопной меткой, которые имеют хроматографическое поведение (время удерживания и интенсивность хроматографического сигнала), соответствующие анализируемому веществу. Но их использование, особенно при многокомпонентном анализе, в котором необходим внутренний стандарт для каждого аналита или группы близких по своим характеристикам веществ, является довольно дорогостоящим и не всегда коммерчески доступным.

Другим подходом к компенсации эффекта матрицы является калибровка с использованием внешних стандартов, согласованных с матрицей (стандартов с тем же или схожим составом матрицы, что и анализируемый образец), получившая признание в мировой и отечественной практике аналитического контроля остаточных количеств пестицидов [5, 6].

Цель данного исследования состоит в оценке применимости различных подходов к калибровке при анализе остаточных количеств хлорорганических пестицидов и их метаболитов в отдельных видах пищевой продукции, предназначенной для детского питания, с использованием тандемной газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС/МС) и пробоподготовки методом QuEChERS. Сравнивалась достоверность и точность данных, полученных при калибровке по внешнему стандарту на растворителе и при калибровке по внешнему стандарту, согласованному с матрицей.

Материал и методы

Объектами исследования стали 16 образцов продукции для детского питания, относящиеся к различным товарным группам, приобретённые на потребительском рынке: смеси молочные с 0 и 6 мес (Группа А. Молоко и молочные смеси); молочная каша на основе сухого молока и цельнозерновой овсяной, ячменной и спельтовой муки (Группа Б. Молочные каши); безмолочные злаковые каши (Группа В. Продукты на зерновой основе (каши); детское пюре на основе плодов фруктов и овощей, а также с добавлением йогурта и цельнозерновой муки (Группа Г. Плодовоовощная продукция); крем-суп из овощей

Матричный эффект: усреднённые значения усиления/подавления хроматографического сигнала пестицидов, внесённых в матрицу по сравнению со значениями сигналов стандартных растворов на растворителе (номинал)**Matrix effect: average values of enhancement/suppression of the chromatographic signal of pesticides added to the matrix compared to the values of signals of standard solutions on the solvent (nominal)**

| Группа продуктов | Продукция | Усиление (+)/подавление (-) сигнала в % (кратность от номинала) | | | | |
|------------------|-------------------------------|---|---------------|-----------------|-----------------|-------------------|
| | | наименование пестицидов | | | | |
| | | альдрин | дильдрин | гексахлорбензол | гептахлор | гептахлор эпоксид |
| А | Молоко восстановленное | + 9,3 (1,1) | + 157,5 (2,6) | + 935,7 (10,4) | + 2285,6 (23,9) | + 328,4 (4,3) |
| Б | Каша молочная восстановленная | + 14,7 (1,2) | + 144,1 (2,4) | + 925 (10,3) | + 2850,0 (29,5) | + 325,1 (4,3) |
| В | Каша зерновая | - 26,8 (0,7) | +121,5 (2,2) | + 599,4 (7,0) | + 1435,7 (15,4) | + 223,4 (3,2) |
| Г | Флодоовощное пюре | + 101,5 (2,0) | + 184,6 (2,9) | + 2066,7 (21,7) | + 2466,2 (25,7) | + 519,0 (6,2) |
| Д | Говядина пюре | - 11,7 (0,9) | + 144,3 (2,4) | + 798,4 (9,0) | + 2222,9 (23,2) | + 319,0 (4,2) |

и телятины или индейки, пюре из говядины или цыплёнка, пюре из рыбы с добавлением лапши, сливок и брокколи (Группа Д. Мясная и рыбная продукция).

Сухие смеси, молочные и безмолочные каши перед анализом подвергали восстановлению до состояния готового к употреблению в соответствии с рекомендациями, вынесенными на этикетку.

Предметом аналитического контроля были хлорорганические вещества (гексахлорбензол, альдрин, дильдрин, гептахлор и эндрин и их метаболиты), отнесённые в соответствии с приложением 10 к ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»* к перечню пестицидов, запрещённых для использования при производстве пищевой продукции для детского питания. В работе использованы сертифицированные стандартные образцы веществ фирмы Sigma-Aldrich (чистота более 95%).

Пробоподготовку образцов к анализу осуществляли по методу QuEChERS. Экстракцию веществ из анализируемых образцов выполняли ацетонитрилом с использованием смеси солей для экстракции (смесь сульфата магния, хлорида натрия, цитрата натрия и натрия лимоннокислого двузамещенного, 1,5-водного), очистку проводили методом дисперсионной твердофазной экстракции с применением смеси сорбентов на основе аминов, октадецилсилана.

Для обеспечения максимальной чувствительности измерения был использован метод ГХ-МС/МС (тандемный трехкврупольный газовый хромато-масс-спектрометр Agilent 7010B/7890B

* ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». Принят решением Таможенного союза от 9.12.2011 № 880.

(G7012B/G3440B) при вводе пробы большого объёма (LVI), в режиме вентилирования растворителя (5 мкл при стандартном вводе 1 мкл). Использована капиллярная колонка HP-5ms Ultra Inert (30 м × 250 мкм × 0,25 мкм) в режиме программирования температуры.

Градуировочные растворы на растворителе (смесь н-гексан-ацетон) были приготовлены в диапазоне концентраций 0,0005–0,01 мкг/мл (5 точек).

Рабочие матричные градуировочные растворы готовили путём последовательного внесения в отобранный ряд навесок холостого образца, равный числу градуировочных уровней, раствора с содержанием исследуемого компонента на соответствующем градуировочном уровне. Проводили пробоподготовку, получали рабочие растворы на основе матрицы с необходимой концентрацией для каждого градуировочного уровня.

Результаты

С целью изучения матричных эффектов были построены градуировочные характеристики, выражающие зависимость площадей пиков от концентрации веществ методом абсолютной и матричной калибровки. Оба варианта калибровки демонстрируют высокий коэффициент корреляции (более 0,99), тем не менее угол наклона градуировочной зависимости при матричной калибровке существенно выше для дильдрин, гексахлорбензола, гептахлора, его метаболита гептахлора эпоксида (см. таблицу).

Максимальные различия отмечены для гептахлора (рис. 1).

В отношении альдрин значимое (более 20%) усиление сигнала отмечается только в плодовоовощной

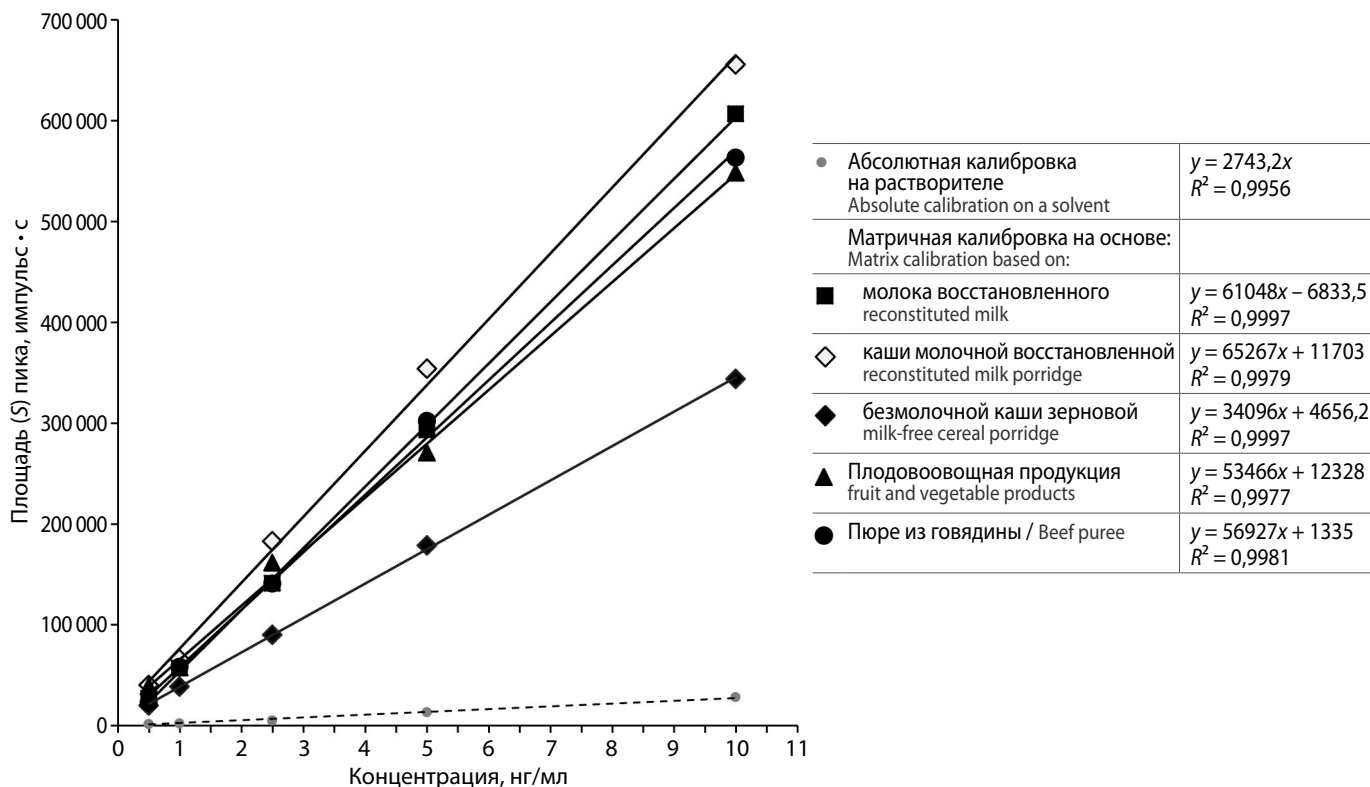


Рис. 1. Градуировочные зависимости площади пика от концентрации гептахлора в растворе.

Fig. 1. Calibration dependences of the peak area (along the ordinate axis) on the concentration of heptachlor in the solution (along the abscissa axis, ng/ml).

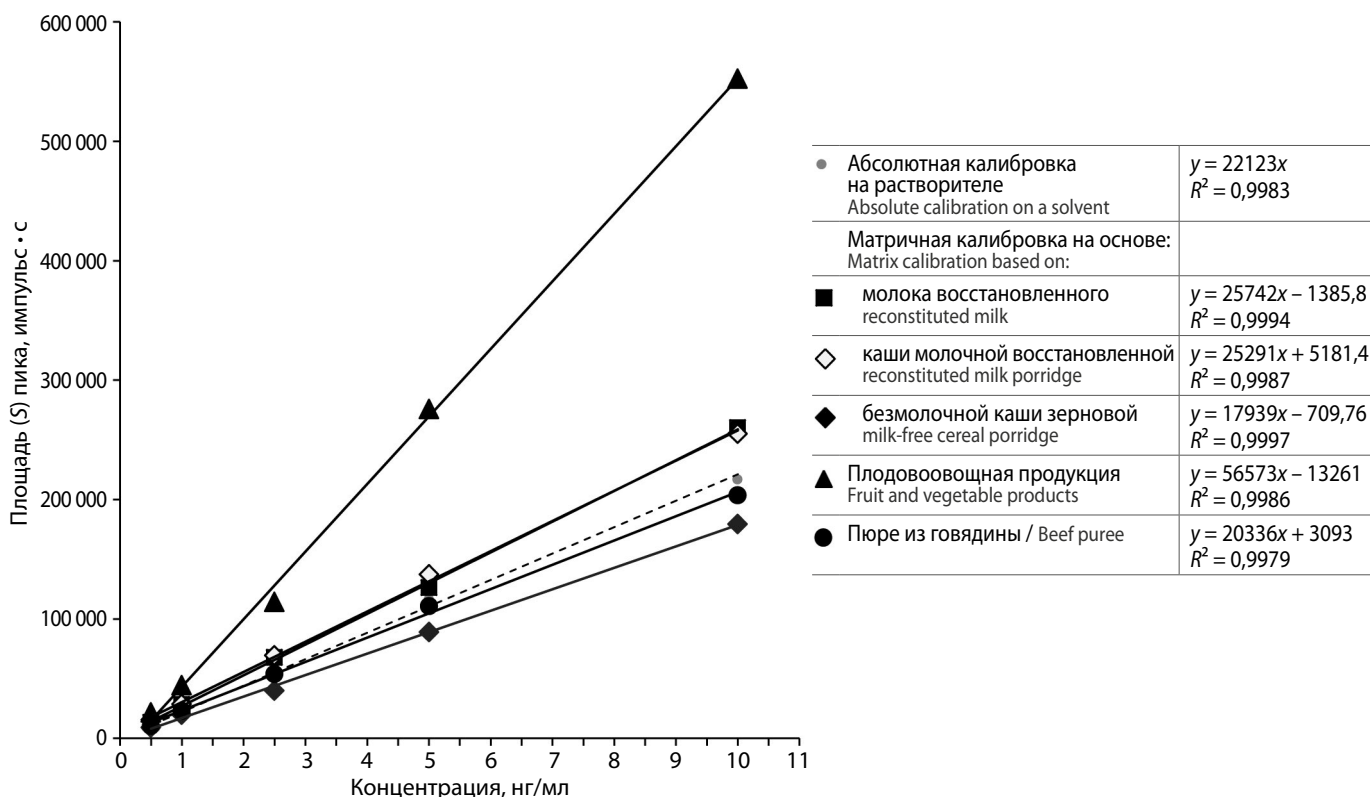


Рис. 2. Градуировочные зависимости площади пика от концентрации альдрина в растворе.

Fig. 2. Calibration dependences of the peak area (along the ordinate axis) on the concentration of aldrin in the solution (along the abscissa axis, ng/ml).

продукции. Градуировочные характеристики, построенные с применением стандартных растворов на растворителе и матрице практически идентичны (отклонение не превышает 20%) для образцов, в которых преобладает продукция животного происхождения: молоко сухое восстановленное, каша молочная, пюре из говядины. В случае каши на зерновой основе отмечается частичное подавление сигнала в присутствии компонентов матрицы (рис. 2).

Обсуждение

Традиционно для количественной оценки содержания веществ в образце аналитики используются калибровкой, построенной на основе анализа серии стандартных растворов, приготовленных на подходящем растворителе, им же, при необходимости, выполняют разбавление образца.

Представленные результаты демонстрируют, что использование калибровки на растворителе может завышать результаты в десятки раз и приводить к необоснованным заключениям о несоответствии продукции требованиям безопасности. Вместе с тем усиление/подавление сигнала, напрямую связанное со структурой и физико-химическими свойствами вещества, а также характером анализируемой матрицы, не всегда имеет место, что позволяет при количественных расчётах использовать классический вариант калибровки на растворителе, что в определённых обстоятельствах имеет своё преимущество. К сожалению, общее предварительное условие, а именно наличие соответствующего холостого образца (то есть материала, свободного от остатков целевого анализируемого вещества) не всегда может быть выполнено. В этом случае возможно использование метода стандартной добавки. Это позволит построить зависимость сигнала от добавленной концентрации и по экстраполяции

определить исходную концентрацию целевого компонента в образце. Метод стандартной добавки позволяет эффективно учитывать влияние матрицы конкретного образца.

Метод матричной калибровки и метод стандартной добавки — это два подхода, применяемых в аналитической химии для учета матричных эффектов. Оба метода используются для повышения точности и надёжности результатов при анализе сложных образцов.

В общем случае рекомендуется выполнять проверку эффекта матрицы перед испытаниями на содержание остаточных количеств пестицидов не только для разных групп продукции, но и внутри одной конкретной категории культур [6]. Так как матричная калибровка с использованием экстракта образца картофеля, относящегося к той же категории культур, что и морковь, не позволила в полной мере компенсировать эффект матрицы, завышая результаты определения трифлуралина в моркови практически в 2 раза [7].

Заключение

Надёжность аналитических данных определяется не только используемым способом разделения компонентов исследуемой смеси и их идентификацией, но и применяемым при анализе подходом, позволяющим компенсировать эффект матрицы.

Сложно утверждать, что существует универсальный для всех аналитов и типов анализируемых образцов метод учёта матричных эффектов. Для образцов со сложной матрицей при наличии серьёзных помех могут потребоваться как новые инструментальные средства, так и различные подходы для учёта матричных эффектов, включая не только методы матричной калибровки и стандартной добавки, но и искусственное моделирование матриц [8, 9].

ЛИТЕРАТУРА

(1–4, 6, 8–9 in References)

- Андоралов А.М., Кузнецов С.В., Афонин М.Б. Матричный эффект при анализе остаточных количеств пестицидов во фруктах и овощах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим детектированием. *Научно-технический вестник Брянского государственного университета*. 2017; 01: 9–17. <https://doi.org/10.22281/2413-9920-2017-03-01-09-17>
- Федорова Н.Е., Добрева Н.И., Соболев Д.Н. Остаточные количества пестицидов: матричные эффекты в аналитическом контроле. В: «Здоровая среда – 2024: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Здоровая среда» (Уфа, 11–12 апреля 2024 года). Под редакцией профессора, д.м.н. А.Ю. Поповой, академика АН Республики Башкортостан, профессора, д.м.н. А.Б. Бакирова». Уфа, 2024; 281–6. Текст электронный. Доступно: <https://vk.cc/cFXK25> (дата обращения: 16 сентября 2024)

REFERENCES

- Nevestić M.B., Kovac' M. Matrix Effect Evaluation in GC/MS-MS Analysis of Multiple Pesticide Residues in Selected Food Matrices. *Foods*. 2023; 12: 3991. <https://doi.org/10.3390/foods12213991>
- Amvrazi E.G., Papadi-Psyllou A.T., Tsiropoulos N.G. Pesticide enrichment factors and matrix effects on the determination of multiclass pesticides in tomato samples by single-drop microextraction (SDME) coupled with gas chromatography and comparison study between SDME and acetone-partition extraction procedure. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2010; 90: 245–59. <https://doi.org/10.1080/03067310903166699>
- AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. *AOAC International*. 2002 (Arlington: Association of Official Analytical Chemists): 1–38. Available at: <https://vk.cc/cFXJvr>
- Cuadros-Rodríguez L., Gámiz-Gracia L., Almansa-López E.M., Bosque-Sendra J.M. Calibration in chemical measurement processes. II. A methodological approach. *Trends Anal. Chem.* 2001: 620–36. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(01\)00111-X](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(01)00111-X)
- Andorolov A.M., Kuznetsov S.V., Afonin M.B. Matrix effect in analysis of pesticide residues in fruits and vegetables by high performance liquid chromatography with quadrupole – time of flight mass spectrometry. *Nauchno-*

- texnicheskij vestnik Bryanskogo gosudarstvennogo universiteta. 2017; 01: 9–17. <https://doi.org/10.22281/2413-9920-2017-03-01-09-17> (in Russian)
6. Analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Supersedes Document No. SANTE/11312/2021 v2/ Implemented by 01.01.2024: 51 p. Available at: <https://vk.cc/cFXJEI>
 7. Fedorova N.E., Dobreva N.I., Sobolev D.N. Residual amounts of pesticides: matrix effects in analytical control. In: "Healthy Environment – 2024: Materials of the All-Russian scientific and practical conference with international participation "Healthy Environment" (Ufa, April 11–12, 2024). Edited by Professor, MD A.Yu. Popova, Academician of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, Professor, MD A.B. Bakirov" ["Zdorovaya sreda – 2024: Materialy Vserossiyskoj nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem "Zdorovaya sreda" (Ufa, 11–12 aprelya 2024 goda). Pod redakciej professora, d.m.n. A.Yu. Popovoj, akademika AN Respubliki Bashkortostan, professora, d.m.n. A.B. Bakirova"]. Ufa, 2024; 281–6. The text is electronic. Available at: <https://vk.cc/cFXK25> (Accessed: September 16, 2024) (in Russian)
 8. Mastovská K., Lehotay S.J., Anastassiades M. Combination of Analyte Protectants to Overcome Matrix Effects in Routine GC Analysis of Pesticide Residues in Food Matrices. *Analytical Chemistry*. 2005; 77: 8129–37. <https://doi.org/10.1021/ac0515576>
 9. Sugitate K., Nakamura S., Orikata N., Mizukoshi K., Nakamura M., Toriba A., Hayakawa K. Search of components causing matrix effects on GC/MS for pesticide analysis in food. *J. Pestic. Sci.* 2012; 37(2): 156–63. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D11-048>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Федорова Наталия Евгеньевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела аналитических методов контроля ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 1410014, Мытищи, Россия. E-mail: natali53fed@yandex.ru

Добрева Наталья Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела аналитических методов контроля ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 1410014, Мытищи, Россия. E-mail: ni_dobreva@mail.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nataliya E. Fedorova, Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, Department of an analytical control methods, Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, 141014, Mytishchi, Moscow region, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-8278-6382> E-mail: natali53fed@yandex.ru

Natalya I. Dobreva, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Department of an analytical control methods, Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, 141014, Mytishchi, Moscow region, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-9415-1007> E-mail: ni_dobreva@mail.ru

