

Кузьмин С.В., Федорова Н.Е., Ивченкова А.А., Добрев С.Д.

Контроль безопасности плодоовощной продукции: определение остаточных количеств каптана – фунгицида класса фталимидов

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

Введение. Фунгициды на основе каптана имеют широкое применение, вследствие чего вещество входит в первую сотню пестицидов, наиболее часто выявляемых в пищевой продукции разных стран. Каптан гидролитически нестабилен и быстро деградирует до метаболита 1,2,3,6-тетрагидрофталимида (ТНПИ), имеет тенденцию разлагаться на различных этапах анализа, что обосновало потребность в проведении специальных экспериментов.

Цель работы – экспериментальное исследование для выявления потенциальных рисков получения некорректных аналитических результатов при определении фактического содержания каптана и ТНПИ в пищевой продукции для оценки её безопасности. Обоснование оптимальных подходов к процедуре анализа и разработка методики контроля содержания каптана и его метаболита тетрагидрофталимида в плодоовощной и соковой продукции.

Материалы и методы. Для идентификации и количественного определения веществ использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с тройным квадрупольным масс-детектором (ВЭЖХ-МС/МС). Для извлечения аналитов из гомогенизированного образца применяли ацетонитрил, содержащий 0,1% муравьиной кислоты. Аликвоту экстракта очищали вымораживанием при температуре минус 18 °С.

Результаты. Скорость трансформации каптана зависит от pH среды, с которой он находится в контакте. В образцах, прошедших пробоподготовку (экстракция подкислённым ацетонитрилом) сразу после внесения (нулевой день), разложения каптана не зафиксировано, что объясняется стабилизацией кислотой. Наибольшая устойчивость вещества наблюдается в кислых продуктах (лимон, pH = 2,0). При необходимости хранения измельчённого образца с низкой кислотностью для максимальной сохранности каптана до анализа рекомендуется понизить pH введением муравьиной кислоты.

Ограничение исследования. В исследовании не рассматривалась пищевая продукция с низким содержанием воды.

Заключение. Показано, что для корректной оценки безопасности пищевой продукции необходимо количественное определение каптана совместно с его метаболитом ТНПИ. Экспериментально обосновано, что понижение pH и температуры при подготовке и хранении проб, экстрактов позволяет сохранить каптан в пробе. Разработана методика определения остаточных количеств каптана и его метаболита тетрагидрофталимида в плодоовощной и соковой продукции методом ВЭЖХ-МС/МС в диапазоне 0,01–50 мг/кг.

Ключевые слова: каптан; тетрагидрофталимид; плодоовощная и соковая продукция; высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрический детектор

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

Для цитирования: Кузьмин С.В., Федорова Н.Е., Ивченкова А.А., Добрев С.Д. Контроль безопасности плодоовощной продукции: определение остаточных количеств каптана – фунгицида класса фталимидов. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(8): 876–881. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-8-876-881> <https://elibrary.ru/lyibrv>

Для корреспонденции: Ивченкова Анастасия Александровна, науч. сотр. отд. аналитических методов контроля ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи. E-mail: analyst1@yandex.ru

Участие авторов: Кузьмин С.В. – концепция и дизайн исследования; Федорова Н.Е. – концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование; Ивченкова А.А. – сбор и обработка материала, статистический анализ, написание текста, редактирование; Добрев С.Д. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистический анализ. *Все соавторы* – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 28.07.2023 / Принята к печати: 15.08.2023 / Опубликовано: 09.10.2023

Sergey V. Kuz'min, Natalia E. Fedorova, Anastasiya A. Ivchenkova, Svetoslav D. Dobrev

Safety control of fruit and vegetable products: determination of residual amounts of a fungicide of the phthalimide class – captan

Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing, Mytishchi, 141014, Russian Federation

Introduction. Due to the widespread use of captan-based fungicides, the substance is among the top of 100 pesticides most frequently detected in food products worldwide. Captan is hydrolytically unstable and rapidly degrades to the metabolite 1,2,3,6-tetrahydrophthalimide (THPI). The substance tends to degrade at various stages of analysis, which justified the need for special experiments.

Purpose of the work. Conducting experimental studies to assess the potential risks of obtaining incorrect analytical results on the actual content of captan and THPI in food products when assessing its safety to substantiate optimal approaches to the analysis procedure and develop a methodology for controlling the content of captan and its metabolite tetrahydrophthalimide in fruit, vegetable, and juice products.

Materials and methods. For the identification and quantitative determination of substances, the method of high performance liquid chromatography with a triple quadrupole mass detector (HPLC-MS/MS) was used. To extract analytes from a homogenized sample, acetonitrile containing 0.1% formic acid was used. An aliquot of the extract was purified by freezing at minus 18 °C.

Results. In the studied samples of citrus, the analytes showed stability. Thirty months after storage of samples in deep freezing conditions (temperature not higher than –20 °C), the identified levels of active ingredients of the pesticides imazalil, pyrimethanil, and prochloraz did not change by more than 20% compared to the previously detected concentrations. Insignificant amounts of imidacloprid, thiabendazole and pyriproxyfen, traces of azoxystrobin and trifloxystrobin, detected in the study of samples, were also found in samples after long-term storage.

Limitation. The study did not look at food products with a low water content.

Conclusion. For a correct assessment of food safety, it has been shown to be necessary to quantify captan together with its metabolite THPI. It has been experimentally substantiated that lowering the pH and temperature during the preparation and storage of samples and extracts makes it possible to retain captan in the sample. A procedure has been developed for determining the residual amounts of captan and its metabolite tetrahydrophthalimide in fruit, vegetable, and juice products by HPLC-MS/MS in the range of 0.01–50 mg/kg.

Keywords: captan; tetrahydrophthalimide; fruit – vegetable and juice products; high performance liquid chromatography; mass spectrometric detector

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

For citation: Kuz'min S.V., Fedorova N.E., Ivchenkova A.A., Dobrev S.D. Safety control of fruit and vegetable products: determination of residual amounts of a fungicide of the phthalimide class – captan. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(8): 876–871. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-8-876-871> <https://elibrary.ru/lyibrv> (In Russ.)

For correspondence: Anastasia A. Ivchenkova, Scientist of the Department of an analytical control methods, Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing, Mytishchi, 141014, Russian Federation. E-mail: analyt1@yandex.ru

Information about the authors:

Fedorova N.E. <https://orcid.org/0000-0001-8278-6382> Ivchenkova A.A. <https://orcid.org/0000-0003-1342-1536> Dobrev S.D. <https://orcid.org/0000-0001-9152-1239>

Contribution: Kuz'min S.V. – the concept and design of the study; Fedorova N.E. – the concept and design of the study, writing the text, editing; Dobrev S.D. – the concept and design of the study, collection and processing of the material, statistical analysis; Ivchenkova A.A. – collection and processing of the material, statistical analysis, writing the text, editing. 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: July 28, 2023 / Accepted: August 15, 2023 / Published: October 9, 2023

Введение

Безопасности сельскохозяйственной продукции, произведённой с применением химических средств защиты растений, уделяется повышенное внимание в Российской Федерации и во всём мире. Особое значение имеет контроль безопасности импортируемой пищевой продукции, при производстве, поддержании товарного вида и потребительских качеств, хранении и транспортировке которой зачастую применяются пестициды, не разрешённые или имеющие ограниченную сферу применения на территории Российской Федерации [1]. В данном аспекте аналитический контроль химической контаминации принципиально важен для обеспечения безопасности пищевой продукции, произведённой с применением пестицидов. Мониторинговые исследования по определению остаточных количеств пестицидов в импортируемой продукции, выполненные в 2021–2022 гг., выявили следы присутствия каптана в такой плодоовощной продукции, как плоды семечковых, косточковых, цитрусовых культур, перца и др.

Первая публикация о каптане появилась в середине прошлого века, тем не менее препараты на его основе актуальны и в настоящее время. Вещество обладает уникальным режимом фунгицидного действия, оно эффективно в отношении как высших, так и низших грибов на самых разных культурах (полевых, овощных, фруктовых), используется против фитофтороза, выпревания и «чёрной ножки» рассады, корневых гнилей, вертициллезного увядания и листовых пятнистостей. Препараты на основе каптана применяют путём опрыскивания, протравливания семян, внесения в лунки, при корневом орошении; он чрезвычайно эффективен в борьбе с болезнями, передающимися через почву, и не вызывает резистентности [2].

Действующее вещество каптан, наименование N-(трихлорметилтио)циклогекс-4ен-1,2-дикарбоксимид, относится к химическому классу фталимидов наряду с фолпетом и каптофолом [3]. Каптан – гидролитически нестабильное соединение и быстро деградирует до метаболита 1,2,3,6-тетрагидрофталимида (ТНПИ), в том числе в организме млекопитающих [4, 5]. Благодаря широкому применению каптан входит в первую сотню пестицидов, наиболее часто выявляемых в пищевой продукции разных стран [6–8]. Несмотря на длительную историю использования вещества и разработанные за это время различные подходы к его определению, представленные в литературе, вопрос количественной оценки уровней каптана в продукции остаётся не до конца изученным [9–18].

В настоящее время в Российской Федерации установлены максимально допустимые уровни (МДУ) каптана для следу-

ющей плодоовощной продукции: черника, брусника, малина, клубника – 20 мг/кг, плодовые косточковые – 25 мг/кг, огурцы – 3 мг/кг, дыня – 10 мг/кг, картофель – 0,05 мг/кг, томаты – 5 мг/кг. Временные нормативы для импортируемой продукции: плодовые косточковые – 25 мг/кг, виноград – 25 мг/кг (ВМДУ), плодовые семечковые – 3 мг/кг, яблочный сок – 0,01 мг/кг, виноградный сок – 0,05 мг/кг¹.

В аналитическом контроле каптана наиболее широко применяют методы газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Измерение концентраций каптана методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ВЭЖХ-МС/МС) показывает низкую чувствительность, поэтому лаборатории обычно проводят анализ с помощью методов газовой хроматографии (ГХ)^{2,3}. Вместе с тем показано, что каптан деградирует в горячем лайнере газового хроматографа, образуя ТНПИ, что исключает возможности дифференцированного определения двух веществ. На термическое разложение каптана оказывает влияние и состояние хроматографической системы, в частности поверхности вкладыша и первой части колонны: степень превращения уменьшается по мере увеличения количества матрицы. Это приводит к существенным ошибкам количественного определения каптана в реальных образцах. Для нивелирования ошибок при определении вносят внутренние стандарты, меченные изотопами, на разных этапах анализа, однако для большинства российских лабораторий их доступность проблематична [15, 16].

Развитие подходов к анализу каптана можно рассматривать как частный случай совершенствования процедур комплексного анализа химических контаминантов пищевой продукции с учётом продуктов их полураспада, конъюгатов и других промежуточных соединений. С одной стороны, наличие продуктов распада химических контаминантов может быть свидетельством нарушения регламентов обработки продукции, с другой стороны, если не нарушен регламент, это может означать, что уровень контаминации продукции значительно снижен. В таком случае данная продукция может быть допущена к обороту на рынке. По своим токсико-

¹ Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания: СанПиН 1.2.3685–21 (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 2 от 28.01.2021 г.).

² МУК 4.1.2455–09 «Определение остаточных количеств каптана в яблочном соке методом газожидкостной хроматографии», утв. 02.02.2009 г.

³ МУК 4.1.2167–07 «Определение остаточных количеств каптана и фолпета в воде, почве, каптана в яблоках, фолпета в клубнях картофеля, винограде методом газожидкостной хроматографии», утв. 15.02.2007 г.

Таблица 1 / Table 1

Результаты определения каптана и ТНРІ в различных матрицах при хранении**The results of the determination of captan and THPI in various matrices during storage**

Матрица Matrix	Содержание веществ, % от внесённого в образец количества каптана Contents, % of the amount of captan added to the sample							
	1 день / day		2 дня / days		3 дня / days		4 дня / days	
	Каптан Captan	ТНРІ	Каптан Captan	ТНРІ	Каптан Captan	ТНРІ	Каптан Captan	ТНРІ
Перец / Pepper	29	71	28	72	34	66	24	76
Перец, стабилизированный муравьиной кислотой Peppers stabilized with formic acid	66	34	67	33	70	30	60	40
Лимон / Lemon	100	0	98	2	98	2	98	2
Апельсин / Orange	88	12	92	8	85	15	75	25

логическим свойствам тетрагидрофталимид обладает более низкой токсичностью для млекопитающих. Острая пероральная токсичность ТНРІ для крыс (LD50) составляет более 10 000 мг/кг массы тела, а каптана — более 2000 мг/кг массы тела [19]. В то же время для выражения содержания ТНРІ в образце в эквиваленте каптана уровень ТНРІ умножается на коэффициент 2 (по соотношению молекулярных масс действующего вещества и метаболита). Анализ каптана сам по себе довольно сложен, так как вещество имеет тенденцию разлагаться на различных этапах: измельчения проб, экстракции, очистки, при хранении измельчённых проб, экстрактов и стандартных растворов. Стабильность вещества в значительной степени зависит от уровня pH и температуры, поскольку оно быстро гидролизует в щелочной и нейтральной средах [2]. Также следует учесть, что ТНРІ не является специфичным продуктом деградации только для каптана, поскольку он также образуется из каптафола [19]. Для корректной гигиенической оценки качества пищевой продукции необходимо не только оценить уровень ТНРІ, но и знать исходное вещество. Поэтому при планировании работы было принято решение, что метод ВЭЖХ-МС/МС предпочтителен.

Цель исследования — экспериментальное исследование с целью выявления потенциальных рисков получения некорректных аналитических результатов при определении фактического содержания каптана и ТНРІ в пищевой продукции для оценки её безопасности и обоснования оптимальных подходов к процедуре анализа. По результатам исследований предстояло разработать методику, которая дала бы возможность системного контроля содержания каптана и его метаболита тетрагидрофталимида в плодово-овощной продукции (плоды семечковых, косточковых, цитрусовых культур, виноград, ягоды, бананы, перец, огурцы, картофель, томаты и др.), а также в соках на их основе, обеспечивающую контроль установленных величин МДУ.

Материалы и методы

В работе использованы следующие материалы и реактивы. Стандартный образец каптана (99,6%, Sigma-Aldrich), стандартный образец ТНРІ (100%, TCI), ацетонитрил (для HPLC-MS/MS, Panreac), муравьиная кислота (ACS, Panreac), вода деионизованная (с сопротивлением не менее 18,2 МОм), метанол (для градиентной ВЭЖХ, НПП «Акваметрия»). Набор QuEChERS Agilent кат. № 5982-0550.

Исследования выполнены с использованием хроматографа жидкостного Exion AD с квадрупольным tandem-ным гибридным масс-детектором Qtrap 6500+, Сингапур (свидетельство о государственной метрологической поверке № С-ДЫТ/12-10-2022/193972211, действительно до 11.10.2023 г.). Применялась хроматографическая колонка

Fusion-RP 80 A (50 × 2 мм, 4 мкм 100 Å). Температура колонки плюс 40 °C, скорость потока элюента 0,3 мл/мин, объём вводимой пробы 5 мкл, подвижная фаза — 1 мМ, формиат аммония — метанол. Режим ионизации — электроспрей (ESI), положительная полярность при определении каптана и отрицательная при определении ТНРІ, режим работы — мониторинг множественных реакций (MRM). Были выбраны следующие масс-переходы (отношение «масса — заряд»): каптан 317/264 (количественный), 319/266, 300/264, 300/235,9 (подтверждающие), ТНРІ 150/96 (количественный), 150/42 (подтверждающий).

Для поддержания стабильности стандартные растворы каптана и ТНРІ (исходные с концентрацией 1000 мкг/мл и все последующие, в большей степени разбавленные) готовили и разводили ацетонитрилом, подкисленным 0,1%-й муравьиной кислотой. Хранили все растворы каптана и ТНРІ в морозильной камере при температуре от минус 16 до минус 20 °C, за исключением экспериментов по оценке стабильности при положительных температурах.

Образцы плодов семечковых (яблоки, груши), косточковых (черешня), цитрусовых (лимоны, апельсины), паслёновых (перец) культур были приобретены в розничной сети и прошли проверку на отсутствие содержания в них каптана и ТНРІ.

Пробы измельчались до получения однородных образцов на куттере (измельчителе) Robot Vixer®2 (Франция).

Пробоподготовка осуществлялась по следующей схеме. К навеске образца массой 10 г, помещённого в полипропиленовую пробирку вместимостью 50 мл, добавляли 10 мл ацетонитрила, содержащего 0,1% муравьиной кислоты. Встряхивали на вихревом шейкере в течение 15 мин, после чего в пробу вносили смесь солей (4 г безводного сульфата магния и 1 г хлорида натрия), пробу энергично встряхивали (1 мин), затем 4–5 мл верхнего жидкого слоя фильтровали через шприцевой мембранный фильтр с размером пор не более 0,45 мкм в пробирку вместимостью 15 мл и помещали в морозильную камеру (температура не выше минус 18 °C) на ночь. Из охлаждённого образца отбирали 1 мл раствора в стеклянные вials и помещали в автоанализатор хроматографа. Для подготовки проб применялись вихревой шейкер типа Вортекс (Heidolph GmbH, Германия), центрифуга лабораторная настольная с охлаждением, Eppendorf 5810R (Eppendorf AG, Германия).

Результаты

Эксперименты по проверке стабильности веществ при хранении рабочих растворов с концентрациями от 0,007 до 0,13 мкг/мл при различных температурных условиях (плюс 15, плюс 4 и минус 18 °C) показали, что в течение семи дней наблюдений изменений концентраций, превышающих 10%, не происходило.

Таблица 2 / Table 2

Метрологические параметры (диапазон определения 0,01–50 мг/кг с учётом разбавления)**Metrological parameters (determination range 0.01–50 mg/kg, taking into account dilution)**

Анализируемый объект Analyzed object	Вещество Substance	Показатель повторяемости σ_r , % Repeatability σ_r , %	Показатель воспроизводимости σ_R , % Reproducibility σ_R , %	Предел повторяемости, r , % Repeatability limit, r , %	Предел воспроизводимости, R , % Reproducibility limit, R , %	Средняя полнота извлечения, % Recovery, %
Яблоки Apples	Каптан / Captan	7.4	10.3	21	29	101.1
	ТНРІ	7.3	10.2	20	28	94.5
Яблоки (сок) Apples (juice)	Каптан / Captan	6.4	8.9	18	25	99.8
	ТНРІ	6.3	8.9	18	25	96.9
Лимон Lemon	Каптан / Captan	7.2	10.0	20	28	100.5
	ТНРІ	6.3	8.9	18	25	105.3
Апельсин (сок) Orange (juice)	Каптан / Captan	6.5	9.1	18	25	104.8
	ТНРІ	6.0	8.3	17	23	94.8
Черешня Cherry	Каптан / Captan	7.7	10.5	21	29.4	105.5
	ТНРІ	5.9	8.3	17	23	99.1
Черешня (сок) Cherry (juice)	Каптан / Captan	6.8	9.5	19	27	107.8
	ТНРІ	6.3	8.8	18	25	90.4
Перец Pepper	Каптан / Captan	6.8	9.5	19	27	92.3
	ТНРІ	6.4	8.9	18	25	99.9

Оценка стабильности каптана при хранении образцов выполнена в соответствии с рекомендациями Организации экономического сотрудничества и развития [20]. Результаты измерений концентраций каптана и ТНРІ при хранении гомогенизированных замороженных образцов с внесением вещества на уровне 0,05 мг/кг приведены в табл. 1. Для выражения содержания ТНРІ в образце в эквиваленте каптана (по соотношению молекулярных масс веществ действующего вещества и метаболита) уровень ТНРІ умножали на 2.

Проверка устойчивости подкислённых ацетонитрильных экстрактов яблок и перца, содержащих каптан и ТНРІ, внесённых в матрицу до начала пробоподготовки, при хранении в различных температурных условиях (плюс 15, плюс 4 и минус 18 °С) продемонстрировала, что при ежедневном измерении концентраций в течение семи дней изменений содержания каптана и его метаболита, превышающих 20%, не происходило.

Градуировочная характеристика, выражающая линейную зависимость концентрации каптана в растворе от отклика хроматографического пика, построена в диапазоне 0,007–0,13 мкг/мл, соотношение «сигнал – шум» на нижней точке калибровки – 12 : 1. Формула зависимости интенсивности пика каптана от его концентрации в растворе имеет вид (1):

$$S = 1,4 \cdot 10^6 \cdot C_1 + 1,73 \cdot 10^3, \quad (1)$$

где S – площадь пика, cps; C_1 – концентрация каптана в растворе, мкг/мл; коэффициент корреляции 0,9993.

В аналогичном диапазоне для ТНРІ соотношение «сигнал – шум» на нижней точке калибровки 15 : 1. Формула зависимости интенсивности пика ТНРІ от его концентрации в растворе имеет вид (2):

$$S = 4,33 \cdot 10^6 \cdot C_2 - 1,12 \cdot 10^3, \quad (2)$$

где C_2 – концентрация ТНРІ в растворе, мкг/мл; коэффициент корреляции 0,9991.

Количественная оценка эффекта матрицы (ЭМ, %) для всех матриц проведена по формуле (3):

$$\text{ЭМ} = [(S_{\text{ст-м}} - S_{\text{ст-р}}) \cdot 100\%] / S_{\text{ст-р}}, \quad (3)$$

где ЭМ – эффект матрицы (%), $S_{\text{ст-м}}$ – площадь пика стандарта на матрице, $S_{\text{ст-р}}$ – площадь пика стандарта на растворителе.

При проведении экспериментов по определению эффекта матрицы обнаружено, что для косточковых (на примере черешни) ЭМ составляет более 20% [21]. В данном случае было принято решение применить матричную калибровку. Нижеприведённые результаты подтверждают целесообразность применения данного подхода в подобных ситуациях. Градуировочные характеристики, выражающие линейную зависимость концентрации каптана и ТНРІ на матрице (черешня) от отклика хроматографического пика, построены в диапазоне 0,007–0,13 мкг/мл, соотношение «сигнал – шум» на нижней точке калибровки для каптана составило 10 : 1, для ТНРІ – 14 : 1. Ниже приведены формулы 4 и 5 зависимости S – площади пика вещества, cps, от C – концентрации в растворе, мкг/мл.

$$S = 7,91 \cdot 10^5 \cdot C + 456, \quad (4)$$

Коэффициент корреляции для каптана 0,9983.

$$S = 2,65 \cdot 10^6 \cdot C + 4,14 \cdot 10^3, \quad (5)$$

Коэффициент корреляции для ТНРІ 0,9994.

Для метрологической оценки разработанной методики определена полнота извлечения каптана и ТНРІ из плодовых семечковых на примере репрезентативных матриц яблок и груш, косточковых – на примере черешни, цитрусовых культур – в лимоне, в соках из яблок, черешни и апельсинов, а также в перце.

Погрешность оценена на основании пяти параллельных измерений при внесении определённого количества веществ в образец в пяти точках по диапазону определяемых концентраций (пять повторностей для каждой концентрации, $p = 0,95$). Внесения были выполнены на уровнях 0,01; 0,02; 0,05; 0,1 и 50 мг/кг. Экстракты образцов с внесением 50 мг/кг разбавлялись в 500 раз перед хроматографированием. Полученные данные полноты извлечения и метрологические параметры приведены в табл. 2. Метрологические параметры (показатель и предел воспроизводимости) рассчитаны в соответствии с рекомендациями РМГ 61–2010 [22].

Обсуждение

Действующее вещество каптан по своей структуре, физико-химическим свойствам, метаболизму в организме млекопитающих, склонности к деградации в образцах является сложным веществом для аналитического определения в исследуемых матрицах. С этих позиций в работе были рассмотрены все критические точки стадий аналитической процедуры: от хранения образцов, пробоподготовки до непосредственного измерения концентраций веществ. Каптан — термически неустойчивое соединение, температура разложения составляет плюс 178 °С, что делает проблематичным его прямое определение с помощью газовой хроматографии. Температура испарения раствора в анализе ВЭЖХ-МС/МС также играет большую роль. С её ростом обычно увеличивается чувствительность метода, в зависимости от потока и определяемого вещества рабочая температура источника находится в диапазоне плюс 450–600 °С. Для обнаружения каптана такая температура исключена. В данном случае необходимо было найти баланс между чувствительностью прибора и стабильностью соединения путём максимально возможного снижения температуры. При этом ТНРИ термически стабилен, но для оптимизации анализа необходимо было подобрать условия совместного определения каптана и его метаболита.

Эксперимент по установлению интенсивности сигнала каптана в растворе, содержащем 0,01 мкг/мл вещества, при температуре источника плюс 250 и 300 °С, объёме инъекции 5 мл показал, что при температуре плюс 250 °С сигнал от каптана не фиксируется. При повышении температуры источника до плюс 300 °С соотношение «сигнал — шум» для каптана составило 12 : 1. Для ТНРИ наблюдалась аналогичная зависимость интенсивности сигнала.

В стремлении увеличить интенсивность сигналов определяемых веществ был повышен объём инъекции до 10 мкл, однако это привело к сильному искажению сигнала ТНРИ из-за перегрузки колонки. Эксперименты по подбору колонки другой ёмкости не проводились, поскольку этот путь привёл бы к увеличению длительности хроматографического анализа, дополнительному повышению давления в системе в случае выбора колонки с таким же зернением или незначительному улучшению хроматографических параметров при очевидном увеличении времени анализа в случае выбора колонки с более грубым зернением и увеличенной длиной.

Для получения достоверных данных о контаминации реальных проб необходимо обладать информацией об устойчивости вещества в объекте. С этой целью проведено изучение устойчивости каптана в образцах плодов семечковых (яблоко, груша), косточковых (черешня), цитрусовых (лимон, апельсин) и паслёновых (перец) культур в процессе пробоподготовки и при хранении измельчённых аналитических образцов и экстрактов.

При изучении устойчивости каптана образцы плодово-овощной продукции на первой стадии пробоподготовки измельчали на ножовой мельнице, навески массой 10 г помещали в полипропиленовые пробирки объёмом 50 мл. В каждую пробирку вносили по 50 мкл раствора каптана с концентрацией 10 мкг/мл, что соответствует 0,05 мг/кг. В часть навесок перца дополнительно перед внесением каптана было добавлено 10 мкл концентрированной муравьиной кислоты с равномерным распределением по объёму пробы. По две параллельные пробы каждой матрицы были подвергнуты немедленной пробоподготовке, остальные были заморожены и хранились при температуре не выше минус 18 °С.

Из литературных данных следует [15], что скорость распада каптана вследствие гидролиза при pH 4,0 и pH 7,0 составляла соответственно 12 и 2,6 ч (при температуре плюс 25 °С), а при pH 9,0 скорость гидролиза была так вели-

ка, что измерить её не удалось. Поэтому была оценена потенциальная возможность потерь определяемого вещества в образцах плодовоовощной продукции после измельчения, когда начинается процесс гидролиза. Был определён показатель кислотности измельчённых образцов: для перца pH 6,0–7,0, перца с внесением 0,1%-й муравьиной кислоты pH 4,0, для лимона pH 2,0, для апельсина pH 4,0–5,0.

Использованная процедура пробоподготовки соответствует технологии QuEChERS [23]. С учётом зависимости устойчивости каптана от pH среды при подготовке пробы к анализу на стадии экстракции применяли смесь солей (4 г безводного сульфата магния и 1 г хлорида натрия), не содержащую буферных солей, направленных на нормализацию pH среды, чтобы не повышать pH пробы. Стадия дисперсионной твердофазной экстракции с применением аминного сорбента была исключена из-за аффинитета данного сорбента к кислотам, очистка экстракта ограничивалась его вымораживанием при температуре не выше минус 18 °С. В образцах, прошедших пробоподготовку (экстракция подкислённым ацетонитрилом), сразу после внесения (нулевой день) разложения каптана не зафиксировано, что объясняется стабилизацией кислотой. Данные табл. 1 подтверждают, что степень трансформации каптана зависит от pH среды, с которой он находится в контакте. Наибольшая устойчивость наблюдается в лимоне (pH 2,0).

При необходимости хранения измельчённого образца для максимальной сохранности каптана в образце до анализа рекомендуется понизить pH введением муравьиной кислоты. Так, на пробу массой 10 г при начальном нейтральном значении кислотности следует добавить 30 мкл кислоты для достижения pH 2,0.

При проверке гипотезы о влиянии доступности воды в жидком агрегатном состоянии на скорость разложения каптана из-за гидролиза пробы после измельчения подвергали заморозке. Из данных табл. 1 следует, что в замороженных пробах в течение четырёх дней не наблюдалось деградации сохранившегося после измельчения каптана. В тех же матрицах, находившихся сутки в холодильной камере при температуре плюс 2–6 °С, каптана не обнаружено. Поэтому даже для кратковременного хранения пробы необходимо помещать в морозильную камеру и все операции от момента измельчения до замораживания образцов проводить максимально быстро.

Полученные значения концентраций веществ в образцах перца (с добавлением и без добавления муравьиной кислоты) после 12 дней хранения в морозильной камере показывают, что за этот срок каптан полностью перешёл в метаболит. Это является дополнительным аргументом для аналитического контроля каптана с учётом его метаболита при оценке безопасности пищевой продукции.

Заключение

1. Показано, что для корректной оценки безопасности пищевой продукции необходимо количественное определение каптана совместно с его метаболитом тетрагидрофталимидом.

2. Экспериментально обосновано, что понижение pH при подготовке и хранении проб, экстрактов позволяет сохранить каптан в пробе.

3. Разработана методика определения остаточных количеств каптана и его метаболита тетрагидрофталимида в плодовоовощной и соковой продукции методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием в диапазоне 0,01–0,1 мг/кг без разбавления и 0,01–50 мг/кг с учётом разбавления образцов перед хроматографированием в 500 раз.

4. По результатам выполненной работы подготовлены методические указания по разделу 4.1. Методы контроля. Химические факторы.

Литература

(п.п. 2–17, 19–21, 23 см. References)

1. Ракитский В.Н., Зоан Н.Х., Федорова Н.Е., Березняк И.В., Ло В.Т., Егорченкова О.Е. и др. Безопасность импортируемой сельскохозяйственной продукции: остаточные количества пестицидов. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2020; 64(3): 150–7. <https://doi.org/10.46563/0044-197X-2020-64-3-150-157> <https://elibrary.ru/zyyubo>
18. Федорова Н.Е., Березняк И.В., Бондарева Л.Г., Добрева Н.И., Егорченкова О.Е., Добрев С.Д. Каптан – проблемы определения в объектах окружающей среды и пищевой продукции. Пути решения. *Химическая безопасность*. 2022; 6(2): 227–42. <https://doi.org/10.25514/CHS.2022.2.23015>
22. РМГ 61–2010. Рекомендации по межгосударственной стандартизации. Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. М.; 2010.

References

1. Rakitskiy V.N., Zoan N.Kh., Fedorova N.E., Bereznayak I.V., Lo V.T., Egorchenkova O.E., et al. Safety of imported agricultural products: pesticide residues. *Zdravookhranenie Rossiyskoy Federatsii*. 2020; 64(3): 150–7. <https://doi.org/10.46563/0044-197X-2020-64-3-150-157> <https://elibrary.ru/zyyubo> (in Russian)
2. Turner J.A., ed. *The Pesticide Manual. Eighteenth Edition*. British Crop Protection Council (BCPC); 2018: 165–7.
3. BCPC. Compendium of Pesticide Common Names. Chemical Classes. Available at: http://bcpcpesticidecompendium.org/summ_groups.html
4. Anastassiadou M., Arena M., Auteri D., Brancato A., Bura L., Carrasco Cabrera L., et al. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance captan. *EFSA J*. 2020; 18(9): e06230. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6230>
5. Berthet A., Bouchard M., Vernez D. Toxicokinetics of captan and folpet biomarkers in dermally exposed volunteers. *J. Appl. Toxicol.* 2011; 32(3): 202–9. <https://doi.org/10.1002/jat.1659>
6. Department for Environment, Food and Rural Affairs; The Expert Committee on Pesticide Residues in Food (PRiF). Report on the pesticide residues monitoring programme: Quarter 1 2018. Available at: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/925479/pesticide-residues-quarter1-2018-report.pdf
7. Liang C.P., Sack C., McGrath S., Cao Y., Thompson C.J., Robin L.P. US Food and Drug Administration regulatory pesticide residue monitoring of human foods: 2009–2017. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* 2021; 38(9): 1520–38. <https://doi.org/10.1080/19440049.2021.1934574>
8. Ambrus A., Szenczi-Cseh J., Doan V.V.N., Vászrhelyi A. Evaluation of monitoring data in foods. *Agrochemicals*. 2023; 2(1): 69–95. <https://doi.org/10.3390/agrochemicals2010006>
9. Cutillas V., Jesús F., Ferrer C., Fernandez-Alba A.R. Overcoming difficulties in the evaluation of captan and folpet residues by supercritical fluid chromatography coupled to mass spectrometry. *Talanta*. 2021; 223(Pt. 1): 121714. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121714>
10. Organtini K., Leonard S., Hird S., McCall E., Cleland G. A new strategy for the determination captan and folpet in food matrices. Available at: https://lcms.cz/labrulez-bucket-strap-h3hsa3/2017rafa_captan_folpet_unispray_c1692663db/2017rafa_captan_folpet_unispray.pdf
11. Oulkar D., Shinde R., Khan Z., Organtini K., Leonard S., Banerjee K. Improved analysis of captan, tetrahydrophthalimide, captafol, folpet, phthalimide, and iprodione in fruits and vegetables by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 2019; 301: 125216. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125216>
12. Velkoska-Markovska L., Tanovska-Ilievska B., Jankulovska M.S., Ilievski U. Development and validation of high-performance liquid chromatography method for determination of some pesticide residues in table grape. *Acta Chromatographica*. 2010; 30(4): 250–4. <https://doi.org/10.1556/1326.2017.00330>
13. Lagunas-Allue L., Sanz-Asensio J., Martinez-Soria M.T. Comparison of two extraction methods for the determination of fungicide residues in grapes through gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 2012; 1270: 62–71. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.10.069>
14. Martínez R.C., Gonzalo E.R., Jiménez Mā.G., Pinto C.G., Pavón J.L., Méndez J.H. Determination of the fungicides folpet, captan and captafol by cloud-point preconcentration and high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J. Chromatogr. A*. 1996; 754(1-2): 85–96. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(96\)00391-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(96)00391-3)
15. EURL-SRM – Analytical Observation Report. Quantification of Residues of Folpet and Captan in QuEChERS Extracts. Version 3.1. Available at: https://eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/meth_CaptanFolpet_EurlSRM.pdf
16. EURL-SRM – Analytical Observations Report. Analysis of captan, folpet and their respective metabolites phthalimide and tetrahydrophthalimide via LC-MS/MS either directly or following hydrolysis. Version 1. Available at: https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?LabID=200&CntID=1130&Lang=EN
17. Oulkar D.P., Shinde R., Khan Z., Organtini K., Leonard S., Banerjee K. Improved analysis of captan, tetrahydrophthalimide, captafol, folpet, phthalimide, and iprodione in fruits and vegetables by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 2019; 301: 125216. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125216>
18. Fedorova N.E., Bereznayak I.V., Bondareva L.G., Dobrega N.I., Egorchenkova O.E., Dobrev S.D. Captan: problems associated with its identification in environmental objects and food products. Ways of solution. *Khimicheskaya bezopasnost'*. 2022; 6(2): 227–42. <https://doi.org/10.25514/CHS.2022.2.23015> (in Russian)
19. University of Hertfordshire. Pesticide Properties DataBase. Captan (Ref: SR 406). Available at: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/114.htm>
20. OECDiLibrary. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 5. Test No 506: Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities. Available at: https://oecd-ilibrary.org/environment/test-no-506-stability-of-pesticide-residues-in-stored-commodities_9789264061927-en
21. Analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Supersedes Document №SANTE/11312/2021; 2022. Available at: https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?CntID=727
22. РМГ 61–2010. State system for ensuring the uniformity of measurements. Accuracy, trueness and precision measures of the procedures for quantitative chemical analysis. Methods of evaluation. Moscow; 2010. (in Russian)
23. Lehotay S.J., Son K.A., Kwon H., Koesukwiwat U., Fud W., Mastovska K., et al. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *J. Chromatogr. A*. 2010; 1217(16): 2548–60. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.01.044>