

## ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКІВ ПЕСТИЦИДІВ ХРОМАТОГРАФІЧНИМИ МЕТОДАМИ ДЛЯ БЕЗПЕЧНОСТІ ХАРЧОВОЇ ПРОДУКЦІЇ

**Н. Ю. ТЕРЕЩЕНКО**, кандидат хімічних наук, старший дослідник,  
доцент кафедри медичної та загальної хімії

**О. Ю. КУРСЕНКО**, асистент кафедри медичної та загальної хімії  
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця,

**О. І. ХИЖАН**, кандидат хімічних наук, науковий співробітник відділу хімії  
гетероциклічних сполук

Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України

**О. І. ХИЖАН**, кандидат хімічних наук, доцент кафедри загальної,  
органічної та фізичної хімії

**О. Ю. БОБУНОВ**, аспірант кафедри агрохімії та якості продукції  
рослинництва ім. О. І. Душечкіна

**Л. О. КОВШУН**, доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри  
загальної, органічної та фізичної хімії

Національний університет біоресурсів та природокористування України  
E-mail: olenakhyzhan@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-2986-3251>

**Анотація.** У роботі подано методологію підготовки проб насіння олійних культур, листя салату, плодів яблук для дослідження методами хроматографічного контролю ксенобіотиків таких хімічних груп пестицидів: похідні бензімідазолу, похідні анілінопіримідину, похідні біпіриділію. Розглянуто виконання наступних процесів: гомогенізації проби, очистки витяжки методами твердо-фазної або рідинно-рідинної екстракції, отримання рослинної витяжки, отримання екстракту аналітів. Для дрібнозернистих гомогенізованих зразків насіння соняшнику оптимальне співвідношення сировина-екстрагент становить 1:20, для пастоподібних гомогенізованих зразків плодів яблуні - 1:10, для рідких зразків гомогенізованого салату - 1: 5. Аналіз розподілу ксенобіотиків параметр в системі октан / вода ( $\log P_{ow}$ ), довідкові дані про діелектричну проникність та дипольний момент розчинників дозволили визначити екстрагенти, здатні розчиняти та видаляти ксенобіотики із сировини. Було виявлено, що суміш ацетонітрилу та метанолу (4: 1) слід використовувати для вилучення похідних бензімідазолу та похідних анілінопіримідину, похідні

біпиридилію найкраще екстрагувати метанольною трифторуксусною кислотою (9,5: 0,5). Проведено кількісний аналіз вмісту ксенобіотиків у екстрактах, отриманих із зразків, штучно збагачених ксенобіотиками. Найбільш повно ксенобіотики видаляли із зразків продуктів рослинництва, що містять сліди жиру. Найскладніший процес підготовки зразків - процес отримання екстракту з насіння сояшинику. На вміст ксенобіотиків у екстрактах, отриманих із зразків, штучно збагачених аналітами, впливає температура, при якій відбувається процес, та тривалість екстракції. На основі хімічного складу матриці зразка та переліку аналітів запропоновано умови варіативної складової методології: отримання рослинної витяжки під дією селективних розчинників, гомогенізована сировина-розчинник при постійному перемішуванні екстракційної системи зі швидкістю 180-200 об/хв, або при дії ультразвукових коливань із частотою 37 кГц від 4 °С до 25 °С упродовж 5-25 хв. Контроль якісного та кількісного складу досліджуваних рослинних витяжок та екстрактів аналітів досліджено методами високоефективної рідинної та газової хроматографії (рідинної та газової) з мас-селективними детекторами.

**Ключові слова:** ксенобіотики, пестициди, похідні бензімідазолу, анілінопіримідину, біпиридилію, екстракти, хроматографія, рослинні витяжки

---

### **Актуальність.**

Продукція рослинництва на сьогодні розподіляється на продукцію, отриману за класичною агротехнологією, що передбачає використання агрохімікатів та продукцію органічного виробництва. У процесі вирощування листкових та стеблових овочів, насіння олійних культур, плодів зерняткових культур використовують засоби захисту рослин, активними компонентами яких є пестициди різних груп (Sekun M.P., 2007). Водночас залишкові кількості пестицидів є ксенобіотики і разом із техногенними забруднювачами нормуються згідно із санітарно-гігієнічними правилами та нормами. Уміст їхній контролюється певними лабораторіями згідно зі стандартизованими методами (DSanPYN 8.8.1.2.3.4-000-2001). З огляду на підходи в аналізованні вмісту ксенобіотиків, є потреба в розробці методології аналізування

залишкових кількостей пестицидів різних хімічних груп: сумішей похідних біпиридилію, бензімідазолу та анілінопіримідину в насінні, а також зелених частинах і плодах сільськогосподарських культур.

### **Аналіз останніх досліджень та публікацій.**

На сучасному етапі активно розвивається методологія вимірювання в продукції рослинництва показників безпечності. Лабораторний контроль таких ксенобіотиків, як група поліциклічних ароматичних вуглеводнів (ПАВ), що можуть накопичуватися в насінні олійних культур розглянуто в роботах (Nesterova L.O., Grybova N.Yu., Khyzhan O.I., 2018; Gribova N.Yu., 2018). Описано дослідження ксенобіотиків методом високоефективної рідинної хроматографії з використанням флуоресцентного детектора після застосування стадії

твердофазної екстракції аналітів. У процесі модернізації методів визначення залишкових кількостей пестицидів можна окреслити такі стадії підготовки проби до дослідження, а також інструментальні дослідження рослинної витяжки й аналітів рослинного екстракту, очищеного від коекстрактивних хімічних речовин. Для виділення цільових аналітів можна застосовувати специфічні екстрагенти, а також сорбенти, різні фізико-хімічні чинники, що здатні змінювати реологічні властивості екстракційних систем та можуть інтенсифікувати вихід із рослинної гомогенізованої сировини до екстракту необхідних компонентів (Melo, A. at al., 2012; Gribova, N.Y. at al. 2008).

Під час визначення вмісту ксенобіотиків, що належать до різних груп пестицидів найбільш поширено використання методу QuEChERS – quick, easy, cheap, effective, rugged and safe (швидкий, зручний, економічний, ефективний, надійний і безпечний) (Document No SANCO/12495/2011, 2014). Треба зазначити, що такий метод лабораторного контролю не дає можливості вилучити ксенобіотики, такі як сполуки ПАВ та пестициди групи біпіридилію – хлормекват, дикват, паракват. Відомо, що спектр застосування похідних біпіридилію – це рослини соняшнику, а також насіннєві посіви капусти, буряку столового, моркви та редьки, рослини картоплі, сорго, конюшини, бобів кормових, сої, люцерни.

Похідні біпіридилію достатньо швидко поглинаються зеленими частинами рослини, водночас контактна діюча речовина – дикват, швидко перетворюється на гідроген пероксид, який призводить до руйнування мембрани клітини й засиханню рослин. Діюча речовина достатньо

швидко розкладається в рослині, тому застосування саме диквату вважається порівняно безпечним на насіннєвих посівах, на посівах призначених для продовольчих цілей.

Дія такого препарату відбувається практично одразу після внесення, між тим візуальний ефект десикації вже помітний за 4-7 діб. За результатами досліджень (Sekun M.P., 2007) похідні біпіридилію діють швидко та в залежності від умов довкілля витрачаються за 50-98 год. Тому лабораторний контроль вмісту доцільно проводити з урахуванням термінів застосування диквату. Державними санітарними правилами та нормами «ДСанПіН 8.8.1.2.3.4-000-2001» для диквату встановлено максимальний вміст залишкових кількостей у насінні соняшнику – 0,5 мг/кг, але водночас методики дослідження не встановлено. Тому метою роботи є встановлення оптимальних умов пробопідготовки рослинної продукції для вилучення ксенобіотиків, встановлення їхнього якісного та кількісного вмісту хроматографічними методами лабораторного контролю.

### **Матеріали і методи досліджень.**

Для досліджень використовували зразки продукції рослинництва: листя салату різних сортів, насіння олійних культур (соняшник, соя, льон), плоди різних сортів яблук. Проведено декілька паралельних лабораторних проб, з яких підлягали штучному збагаченню цільовими ксенобіотиками три проби. Гомогенізація проб виконувалась внаслідок подрібнення в стакані лабораторного млину-гомогенізатора, за температур від +4 °С до +25 °С. Для одержання рослинної витяжки застосовувалися хімічні ре-

човини «ч.д.а»: ацетон, ацетонітрил, метанол, н-гексан, толуол, кислоти (мурашина, оцтова, трифтороцтова, соляна), ізопропанол. Зазначені сполуки застосовувалися як індивідуальні екстрагенти, або в сумішах, у тому числі з деіонізованою водою. Для буферизації розчину шару досліджуваного гомогенізованого зразка та в процесі очистки рослинної витяжки використовували хімічні речовини кваліфікації «ч.д.а»: хлорид натрію, сульфат магнію, цитрат натрію, оксид алюмінію, хлорид кальцію.

Екстракція здійснювалася в пробірках із політетрафторетилену, у колбах із темного скла та колбах із поліметилпентену, захищених світлонепроникними кожухами. Під час вилучення аналітів відбувалася інтенсифікація масопереносу за варіювання співвідношення сировина-екстрагент, під дією перемішування, температури, ультразвукових хвиль із частотою 37 кГц (генерувалися установкою Advantage Lab). Розділення фаз екстракційної системи проводилося із використанням центрифуги Thermo Scientific, за 10 хв за 7000 об/хв., температурі 4 °С. Одержана рослинна витяжка підлягала очищенню від коекстрактивних сполук методами дисперсійної екстракції або рідинно-рідинної екстракції із застосуванням органічних розчинників та картриджив виробництва Supelco, заповнених сумішами амінів первинних і вторинних. Концентрування очищеного екстракту проводили в ротаційному випаровувачі ІКА. Аналіз кількості ксенобіотиків в отриманих розчинах проводили методами високоефективної рідинної та газової хроматографії із застосуванням мас-спектрометричних детекторів (ВЕРХ/МС/МС та ГХ/МС) на хрома-

тографах Dionex та Agilent. Результати аналітичних сигналів та спектри аналітів опрацьовано за допомогою калібрувальних залежностей та баз даних Chromeleon 6.0 та інсталюваної бібліотеки мас-спектрів (NIST 0.5).

### **Результати досліджень та їх обговорення.**

Підготовка лабораторної проби для аналізу розпочинається з однакового для різних груп продуктів харчування етапу – гомогенізації зразка. У роботі гомогенізацію зразка проведено в стакані млинка-гомогенізатора зі швидкістю 10000 об/хв. Одержані гомогенізовані проби через різний хімічний склад кожної з матриці відрізнялися агрегатним станом: пастоподібний, дрібнозернистий, рідкий. Згідно з літературними даними щодо харчової цінності та хімічного складу матриці зразків (Document No SANCO/12495/2011, 2014) було розраховано за формулою (1.1) та наведено (табл. 1) масові частки W, % хімічних сполук ( $m_{\text{компоненту}}$ ) матриці:

$$W = \frac{m_{\text{компоненту}}}{m_{\text{гомогенізованого зразка}}} \times 100\% \quad (1.1)$$

Як видно з таблиці 1, у гомогенізованому насінні соняшнику міститься значна кількість жирів, а основним складником гомогенізованих зразків листя салату і плодів яблук є вода. У роботі використано полярні й неполярні, протонні й апротонні розчинники та їхні суміші. Для створення більш оптимальних умов вилучення ксенобіотиків із гомогенізованої сировини були використані добавки органічних та мінеральних кислот для зрушення рівноваги процесу дисоціації іоногенних ксенобіотиків у бік утворення молекул. Оптимальне співвідношення

## 1. Масова доля сполук у складі зразків продукції рослинництва

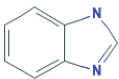
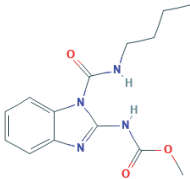
Ядра насіння соняшнику	Листя салату «Айсберг»	Плоди яблук зі шкіркою
жири 51,46 %; білки 20,78 %; вуглеводні 10,21 %; вода 4,73 %; інші хімічні сполуки 12,82 %.	жири 0,08 %; білки 0,90 %; вуглеводні 2,97 %; вода 95,64 %; інші хімічні сполуки 0,41 %.	жири 0,17 %; білки 0,26 %; вуглеводні 11,41 %; вода 85,56 %; інші хімічні сполуки 2,60 %.

між екстрагентом та гомогенізованим зразком встановлене за результатами візуального аналізу зовнішнього вигляду екстракційних систем та перевірено за допомогою хроматографічного аналізу вмісту маркерів (Беноміл, Ципродиніл, Дикват) у рослинних витяжках. Для рідких зразків гомогенізованого листя салату оптимальним співвідношенням сировина-екстрагент є 1 : 5, для пасто-подібних гомогенізованих зразків плодів яблук співвідношення дорівнює 1 : 10, для дрібнозернистих гомогенізованих зразків насіння соняшнику – 1 : 20. За визначених співвідношень, за постійного перемішування 180-200 об/хв або за дії ультразвукових коливань частотою 37 кГц в екстракційній системі встановлена відсутність зон спресування сировини. Це є необхідною умовою реалізації масопереносу ксенобіотиків із частинок рослинного матеріалу у витяжку завдяки конвективній дифузії. Ксенобіотики, що належать до однієї хімічної групи, як правило, відріз-

няються наявністю в молекулі вуглеводневих замісників (таблиця 2). Ці замісники можуть впливати на пестицидні й токсичні властивості активного інгредієнта засобів захисту рослин, змінювати фізико-хімічні властивості (Sekun M.P., 2007). Аналіз хімічної будови ксенобіотиків та параметру розподілу ксенобіотику в системі октаном / вода ( $\log P_{ow}$ ), довідникових даних величин діелектричної проникності та дипольного моменту розчинників, дав можливість визначити і проаналізувати дію екстрагентів, здатних розчиняти та вилучати із сировини ксенобіотики, а саме: ацетонітрил, метанол, ацетон, н-гексан, толуол, ізопропанол, розчини оцтової, мурашиної, трифтороцтової та соляної кислот.

Аналізуючи дані, наведені в таблиці 2, було зроблене припущення, що такі ксенобіотики будуть концентруватися в органічному шарі екстракційної системи. Вилучення ксенобіотиків різними екстрагентами та кількісний аналіз ксенобіотиків в екстрактах за допомо-

## 2. Параметри гідрофобності деяких ксенобіотиків

Назва хімічної сполуки	Структурна формула	$\log P_{ow}$
Бензімідазол		1,3
Беноміл		1,4

гою хроматографічних методів (рис. 1, табл. 3), показало, що для екстракції похідних бензімідазолу та похідних анілінопіримідину потрібно застосовувати суміш ацетонітрилу з метанолом (у співвідношенні 4 : 1), похідні біпіридилію найкраще вилучаються метанольним розчином трифтороцтової кислоти (за співвідношення 9,5 : 0,5).

Ідентифікація піків проведена за бібліотекою мас-спектрів через порівняння двох параметрів: часу утримання піку ксенобіотику та часу утримання піку аналітичного стандарту, величини характеристичних іонів ксенобіотиків та відповідні величини аналітичних стандартів. Кількісний аналіз проведений за калібрувальними залежностями, значення середнього значення та похибки величини, отриманої під час вимірювання, розраховані за допомогою програми Excel.

З таблиці 3 видно, що найбільш повно вилучено ксенобіотики зі зраз-

ків продукції рослинництва, які містять слідові кількості жирів (табл. 2). Найскладнішим з погляду проведення процесу підготовки проби до дослідження та згідно з відсотком вилучення ксенобіотиків (табл. 3), є процес отримання рослинної витяжки з насіння соняшнику. Відсоток екстрагованих ксенобіотиків із насіння соняшнику є меншим за відсоток тих самих маркерів, вилучених з листя салату та плодів яблук. Однак, процес виконання пробопідготовки насіння соняшнику є задовільним, оскільки встановлений середній відсоток вилучення штучно внесеного ксенобіотика є більшим за 80 %. Треба зазначити, що на вміст ксенобіотиків у витяжках, отриманих зі зразків штучно збагачених аналітами (табл. 3) впливає температура, за якої відбувається процес та тривалість екстракції. Оптимальними умовами є температура від 4 °С до 25 °С та дія екстрагенту впродовж 5-25 хв.

### **3. Кількісний аналіз умісту ксенобіотиків в екстрактах, отриманих зі зразків штучно збагачених ксенобіотиками**

Найменування маркера	Екстрагент	Внесено, мкг/кг	Визначено, мкг/кг	Вилучення, %
Насіння соняшнику				
Беноміл	суміш ацетонітрилу з метанолом (4:1)	0,50 ± 0,01	0,41 ± 0,03	82,0 ± 6
Ципродиніл		0,50 ± 0,01	0,40 ± 0,03	80,0 ± 6
Дикват	метанольний розчином трифтороцтової кислоти	0,50 ± 0,01	0,43 ± 0,03	86,0 ± 6
Листя салату				
Беноміл	суміш ацетонітрилу з метанолом	0,50 ± 0,01	0,49 ± 0,01	98,0 ± 2
Ципродиніл		0,50 ± 0,01	0,49 ± 0,02	98,0 ± 4
Дикват	метанольний розчином трифтороцтової кислоти	0,50 ± 0,01	0,51 ± 0,03	102,0 ± 6
Плоди яблук				
Беноміл	суміш ацетонітрилу з метанолом	0,50±0,01	0,48±0,01	96,0±2
Ципродиніл		0,50±0,01	0,49±0,02	99,0±4
Дикват	метанольний розчином трифтороцтової кислоти	0,50±0,01	0,47±0,02	94,0±4

## Висновки та перспективи досліджень.

Аналіз кількісного і якісного вмісту ксенобіотиків у рослинних витяжках та очищених від коекстрактивних речовин екстрактах дав можливість встановити оптимальні умови варіативної складової методології підготовки проб продукції рослинництва до стадії визначення хроматографічними методами лабораторного контролю вмісту їх ксенобіотиків. Оптимальними екстрагентами є суміші ацетонітрилу з метанолом (4 : 1) та суміш метанолу з трифтороцтової кислоти (9,5 : 0,5). Співвідношення компонентів екстракційної системи варіюється залежно від агрегатного стану гомогенізованої проби. Встановлено, що для насіння соняшнику оптимальним співвідношенням сировини й екстрагенту є співвідношення 1 : 20, для плодів яблук – 1 : 10, для листя салату – 1 : 5. Екстракція проходить в умовах постійного перемішування екстракційної системи зі швидкістю 180-200 об/хв, або за дії ультразвукових коливань частотою 37 кГц за температури від 4 °С до 25 °С упродовж 5-25 хв.

### References

1. Sekun M.P.(2007) Pestitsidi. Zastosuvannya dija ta pisljadija. Dovidnik iz pestitsidiv (Pesticides. Application of action and aftereffect. Handbook of pesticides). K. Kolobig. 2007. P.360.
2. DSanPYN 8.8.1.2.3.4-000-2001. Dopusytni dozy, kontsentratsii, kilkosti ta rivni vmistu pestytsydiv u silskohospodarskii syrovyni, kharchovykh produktakh, povitri robochoi zony, atmosfernomu povitri, vodi vodoimyshch, hrunti.( Permissible doses, concentrations, amounts and levels of pesticides in agricultural raw materials, food, air of the working area, atmospheric air, water of reservoirs, soil). Postanova Holovnoho derzhavnoho sanitarnoho likaria Ukrainy vid 20.09.2001 . 137.
3. Nesterova L.O., Grybova N.Yu., Khyzhan O.I. (2018) Rozrobka metodiki kontrolyu lzomeriv politsiklichnih aromaticnih vuglevodniv v roslinnih ollyah (Development of methods for control of isomers of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils). Visnik NUBIP Ukrayini. 286. P. 311-319. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Agronomija/article/view/10875>
4. Gribova N.Yu. (2018) Ekstraktsiya ksenoblotikiv grupi PAV z nasynnya sonyashniku (Extraction of surfactant xenobiotics from sunflower seeds). Visnik NUBIP Ukrayini, 294, P. 209-218. DOI: <http://dx.doi.org/10.31548/agr2018.294.209>
5. Melo, A., Cunha, S. C., Mansilha, C., Aguiar, A., Pinho, O., & Ferreira, I. M. (2012). Monitoring pesticide residues in greenhouse tomato by combining acetonitrile-based extraction with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas-chromatography-mass spectrometry. Food chemistry. 135(3). P.1071-1077. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.05.112.
6. Gribova, N.Y., Filippenko, T.A., Nikolaevskii, A.N. et al. (2008). Effects of ultrasound on the extraction of antioxidants from bearberry (Arctostaphylos adans) leaves. Pharm Chem J 42.P. 593–595. <https://doi.org/10.1007/s11094-009-0181-7>
7. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Document No SANCO/12495/2011– [Implemented by 01/01/2014]. European Commission health & Consumer Protection Directorate-General. 2013. 48 p. (Safety of the food chain Chemicals, contaminants, pesticides).

**Tereshchenko N., Kursenko O., Khyzhan O., Khyzhan O., Bobunov O., Kovshun L.  
(2021) DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES BY CHROMATOGRAPHIC METHODS  
FOR FOOD SAFETY. PLANT AND SOIL SCIENCE, 12(3): 111–118.**

<https://doi.org/10.31548/agr2021.03.111>

**Abstract.** The paper presents the methodology of preparation of samples of oilseeds, lettuce, apples for research by chromatographic control of xenobiotics of the following chemical groups of pesticides: benzimidazole derivatives, anilinopyrimidine derivatives, bipyridylium derivatives. The implementation of the following processes is considered: homogenization of the sample, purification of the extract by solid-phase or liquid-liquid extraction, obtaining a plant extract, obtaining an extract of analytes. For fine-grained homogenized samples of sunflower seeds, the optimal ratio of raw material -extragent is 1:20, for pasty homogenized samples of apple fruit - 1:10, for liquid samples of homogenized lettuce - 1: 5. Analysis of the distribution of xenobiotics in the system octane/water, the dipole moment of solvents allowed to determine the extractants that are able to dissolve and remove xenobiotics from raw materials. It was found that a mixture of acetonitrile and methanol (4: 1) should be used to remove benzimidazole derivatives and anilinopyrimidine derivatives, bipyridylium derivatives are best extracted with methanolic trifluoroacetic acid (9.5: 0.5). Quantitative analysis of xenobiotics content in extracts obtained from samples artificially enriched with xenobiotics was performed. The most complete xenobiotics were removed from samples of plant products containing traces of fat. The most difficult process of sample preparation is the process of obtaining sunflower seed extract. The content of xenobiotics in extracts obtained from samples artificially enriched in analytes is influenced by the temperature at which the process takes place and the duration of extraction. Based on the chemical composition of the sample matrix and the list of analytes, the conditions of the variable component of the methodology are proposed: obtaining plant extract under the action of selective solvents, homogenized raw material-solvent with constant stirring of the extraction system at 180-200 rpm, or under the action of ultrasonic vibrations with a frequency of 37 kHz from 4°C to 25°C for 5-25 minutes. The control of the qualitative and quantitative composition of the studied plant extracts and analyte extracts was investigated by the methods of high-performance liquid and gas chromatography (liquid and gas) with mass-selective detectors.

**Keywords:** xenobiotics, pesticides, benzimidazole derivatives, anilinopyrimidine, bipyridylium, extracts, chromatography, plant extracts

---