

Гречина М.С., Ракитский В.Н., Федорова Н.Е.

Стабильность остаточных количеств пестицидов в плодах цитрусовых при хранении

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. Хранение отобранных проб перед транспортировкой в лабораторию и непосредственно перед проведением анализа является важной составляющей в процессе контроля и оценки качества продукции.

Цель работы — оценить деградацию действующих веществ пестицидов в реальных пробах плодов цитрусовых культур, оставленных на длительное хранение в условиях глубокой заморозки.

Материалы и методы. Для идентификации и количественного определения действующих веществ пестицидов использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с тройным квадрупольным масс-детектором (ВЭЖХ-МС/МС). Согласно методике анализа МУК 4.1.3657–20, криогенное измельчение проб проводилось в куттере с использованием сухого льда. Пробоподготовка осуществлялась по технологии QuEChERS. Для извлечения аналитов из гомогенизированного образца применяли ацетонитрил в присутствии солей, содержащих цитратный буфер, с последующей очисткой экстракта методом ТФЭ.

Результаты. В исследованных пробах цитрусовых аналиты показали стабильность. По окончании 30 мес хранения образцов в условиях глубокой заморозки (температура не выше минус 20 °С) идентифицированные уровни действующих веществ пестицидов имазалила, пириметанила и прохлораза не изменились более чем на 20% по сравнению с ранее обнаруженными концентрациями. Выявленные при исследовании образцов незначительные количества имидаклоприда, тиабендазола и пирипроксифена, а также следы азоксистробина и трифлуксистробина также обнаружены в пробах после длительного хранения.

Ограничение исследования. Исследование ограничено изучением стабильности отдельных действующих веществ, которые обнаружены в реальных пробах цитрусовых, предназначенных для реализации потребителю.

Заключение. Надлежащее хранение образцов должно обеспечивать сохранение уровней действующих веществ в пробах и исключать их изменение вследствие различных процессов (улетучивания, ферментативного и гидролитического разложения и др.), что требует выполнения предварительных экспериментальных исследований для оценки их стабильности. В работе показана стабильность остаточных количеств имазалила, пириметанила, прохлораза, имидаклоприда, тиабендазола и пирипроксифена в матрицах цитрусовых плодов при условиях хранения в морозильном ларе при температуре не выше минус 20 °С в течение 30 мес.

Ключевые слова: пестициды; хранение проб; QuEChERS; плоды цитрусовых; аналитический контроль остаточных количеств; ВЭЖХ-МС/МС

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

Для цитирования: Гречина М.С., Ракитский В.Н., Федорова Н.Е. Стабильность остаточных количеств пестицидов в плодах цитрусовых при хранении. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(6): 591–596. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-6-591-596> <https://elibrary.ru/suafga>

Для корреспонденции: Гречина Марина Сергеевна, науч. сотр. отд. аналитических методов контроля ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи. E-mail: analyt1@yandex.ru

Участие авторов: Ракитский В.Н. — концепция и дизайн исследования, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи; Федорова Н.Е. — концепция и дизайн исследования, написание рукописи, редактор, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи; Гречина М.С. — сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание рукописи, сбор данных литературы.

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

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила: 23.05.2023 / Принята к печати: 31.05.2023 / Опубликована: 30.07.2023

Marina S. Grechina, Valery N. Rakitskii, Natalya E. Fedorova

Stability of pesticide residues in citrus fruits during storage

Federal Scientific Center of Hygiene named after F. Erisman, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Mytishchi, 141014, Russian Federation

Introduction. Storage of selected samples before transportation to the laboratory and immediately before analysis is an important component in the process of product quality control and evaluation.

Purpose of the work was to evaluate the degradation of pesticide active substances in real samples of citrus fruit left for long periods of storage in deep freezing conditions.

Materials and methods. High-performance liquid chromatography with triple quadrupole mass detector (HPLC-MS/MS) was used to identify and quantify pesticide active substances. According to the method of analysis MUK 4.1.3657–20, cryogenic grinding of samples was carried out in a cutter using dry ice. Sample preparation was carried out using the QuEChERS technology. To extract analytes from a homogenized sample acetonitrile was used in the presence of salts containing citrate buffer, followed by purification of the extract by SPE.

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, as well as traces of azoxystrobin and trifloxystrobin, detected in the study of samples, were also found in samples after long-term storage.

Limitation. The study is limited to the study of the stability of individual active substances found in real samples of citrus fruits intended for sale to the consumer.

Conclusion. Proper storage of samples should ensure the preservation of the levels of active substances in the samples and exclude their change due to various processes (volatilization, enzymatic and hydrolytic decomposition, etc.), which requires the performance of preliminary experimental studies to assess their

stability. The work showed the stability of residual quantities of imazalil, pyrimethanil, prochloraz, imidacloprid, thiabendazole, and pyriproxyfen in citrus fruit matrices under storage conditions in a freezer at not more than $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 30 months.

Keywords: pesticides; sample storage; QuEChERS; citrus fruits; analytical control of pesticide residues; HPLC-MS/MS

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

For citation: Grechina M.S., Rakitskii V.N., Fedorova N.E. Stability of pesticide residues in citrus fruit during storage. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(6): 591–596. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-6-591-596> <https://elibrary.ru/suafiga> (In Russ.)

For correspondence: Marina S. Grechina, Scientist of the department of an analytical control methods, Federal Scientific Center of Hygiene named after F. Erisman, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Mytishchi, 141014, Russian Federation. E-mail: analyt1@yandex.ru

Information about authors:

Rakitskii V.N., <https://orcid.org/0000-0002-9959-6507> Fedorova N.E., <https://orcid.org/0000-0001-8278-6382> Grechina M.S., <https://orcid.org/0000-0003-3324-5090>

Contribution: Rakitskii V.N. — research concept and design, approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article; Fedorova N.E. — research concept and design, writing of the manuscript, editor, approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article; Grechina M.S. — collection and processing of material, statistical analysis, writing of the manuscript, collection of literature data. 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: May 23, 2023 / Accepted: June 7, 2023 / Published: July 30, 2023

Введение

Стабильность остаточных количеств пестицидов в пробах, оставленных на хранение для дальнейшего использования и анализа, — проблема, с которой сталкиваются лаборатории в процессе своей работы. При оценке безопасности растениеводческой продукции, выращенной с применением химических средств защиты растений, необходимо обеспечить сохранение в образцах идентичных и точно поддающихся количественному определению уровней пестицидов с момента отбора проб до анализа, а также, при необходимости, для иных целей.

При контроле продукции, в том числе импортируемой, рекомендуется после выполнения испытаний сохранять пробы в виде резервных образцов на случай проверки или подтверждения результатов, в том числе в других лабораториях, обладающих большей компетентностью, что особенно актуально при выявлении уровней содержания действующих веществ, превышающих установленные гигиенические нормативы. Согласно документу [1], при отсутствии возможности проанализировать пробы незамедлительно, но планировании их анализа в течение нескольких дней образцы рекомендуется помещать в температурные условия холодильника (плюс $1-5\text{ }^{\circ}\text{C}$), вдали от солнечных лучей. Глубокозамороженные образцы следует хранить при температуре, не превышающей минус $16\text{ }^{\circ}\text{C}$, до проведения анализа. При необходимости длительного хранения образцов рекомендуется поддерживать температуру не выше минус $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, поскольку в этом случае ферментативное расщепление остатков пестицидов происходит очень медленно. В соответствии с принципами Надлежащей лабораторной практики Организации экономического сотрудничества и развития [2] допускается хранение образцов без дополнительной экспериментальной проверки при глубокой заморозке в течение периода, не превышающего 30 дней. Возможность длительного хранения, как правило, проверяется анализом обогатённых проб, хранившихся в аналогичных условиях и в течение такого же времени [3]. Данные о некоторых действующих веществах можно получить из информации, предоставляемой фирмами — производителями препаратов, для которых определение сроков хранения является обязательной процедурой при регистрации. Отдельные сведения о стабильности остаточных количеств пестицидов в различных матрицах при хранении можно найти в ежегодных публикациях, подготовленных по результатам совместных совещаний ФАО/ВОЗ по остаткам пестицидов [4].

Испытания стабильности пестицидов при хранении в морозильной камере предполагают включение большого объёма исходного материала и достаточно высокие концентрации действующих веществ в нём для обеспечения возможности количественной оценки даже минимального из-

менения уровней во время хранения. В качестве образцов можно использовать продукцию, обработанную пестицидами и содержащую их в больших количествах, либо контрольные образцы с добавлением известных концентраций аналитов (обогатённая проба). Если необходимо проверить стабильность более одного пестицида в пробе, исследование должно быть спланировано так, чтобы продемонстрировать стабильность каждого компонента. В этом контексте для количественного измерения концентраций аналитов наиболее предпочтительны методы группового анализа, позволяющие в одной пробе провести быстрое определение исследуемых действующих веществ, экономия временных и материальных ресурсов. Без использования таких подходов процесс извлечения и анализа затруднителен и долгосрочен.

Цель работы — оценка деградации действующих веществ пестицидов в реальных пробах плодов цитрусовых культур, оставленных на длительные сроки хранения в условиях глубокой заморозки.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись образцы плодов цитрусовых культур (мандарины, грейпфруты, апельсины, лимоны) с выявленным содержанием пестицидов. Обнаруженные уровни имазалила, пириметанила и прохлоразы превышали $0,1\text{ мг/кг}$. В зависимости от вида цитрусовых в пробах присутствовали имидаклоприд, тиабендазол, азоксистробин, пирпроксифен, трифлуксистробин — от минимальных следовых количеств до $0,1\text{ мг/кг}$.

Для получения репрезентативных проб плоды мандаринов, апельсинов, грейпфрутов и лимонов подвергались гомогенизации при отрицательной температуре. Процесс проводили в куттере Robot Coup 10 (Франция) с использованием сухого льда, минимизируя негативное влияние процессов при обработке. Полученные однородные пробы были проанализированы, и образцы с выявленными остатками пестицидов заложены для хранения в морозильный ларь при температуре не выше минус $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Анализ образцов на содержание действующих веществ пестицидов проводился методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) в соответствии с методическими указаниями МУК 4.1.3657–20¹. Согласно методике, пробоподготовка осуществлялась по технологии QuEChERS [5], хорошо зарекомендовавшей себя в качестве быстрой и универсальной для большого количества действующих веществ пестицидов и матриц.

¹ МУК 4.1.3657–20 «Многокомпонентное определение остаточных количеств пестицидов различных химических классов в цитрусовых хроматографическими методами», утв. 26.10.2020 г.

Остаточные концентрации (мг/кг) действующих веществ пестицидов в плодах citrusовых культур непосредственно после измельчения образцов и через 30 мес хранения**Residual concentrations (mg/kg) of pesticide active ingredients in citrus fruit before storage and after 30 months of storage**

Действующее вещество Active ingredient	Лимон / Lemon		Апельсин / Orange		Мандарин / Mandarin		Грейпфрут / Grapefruit	
	срок хранения / retention period							
	0 дней / days	30 мес / mo	0 дней / days	30 мес / mo	0 дней / days	30 мес / mo	0 дней / days	30 мес / mo
Имазалил / Imazalil	0.42	0.40	0.327	0.335	0.317	0.324	0.015	0.017
Пириметанил / Pyrimethanil	2.05	1.80	0.059	0.048	0.078	0.072	0.078	0.079
Прохлораз / Prochloraz	—	—	—	—	0.134	0.115	0.068	0.060
Имдаклоприд / Imidacloprid	0.015	0.018	0.033	0.027	0.030	0.027	—	—
Тиабендазол Thiabendazole	0.176	0.140	Следы* Traces*	Следы* Traces*	—	—	Следы* Traces*	Следы* Traces*
Пирипроксифен / Pyriproxyfen	0.035	0.034	—	—	—	—	—	—
Азоксистробин Azoxystrobin	—	—	—	—	Следы* Traces*	Следы* Traces*	—	—
Трифлуксистробин Trifloxystrobin	Следы* Traces*	Следы* Traces*	—	—	—	—	—	—

Примечание. * — на уровне предела детектирования — 0,005 мг/кг.

Note: * — at the level of detection limit — 0.005 mg/kg.

По процедуре пробоподготовки на первой стадии аналитический образец массой 10 г помещали в полипропиленовую пробирку объёмом 50 мл и экстрагировали ацетонитрилом в присутствии солей, содержащих цитратный буфер (метод EN 15662) [6]. На второй стадии аликвоту экстракта, помещённую в пробирку объёмом 15 мл, подвергали очистке насыпными сорбентами, имеющими в составе смесь первичных и вторичных аминов (PSA), сульфата магния и октадецилсилана (С18ЕС). После каждой стадии пробирки с экстрактом центрифугировали в течение 3–5 мин при скорости вращения 4500–6000 оборотов в минуту. Финальную доочистку экстракта осуществляли на шприцевых фильтрах с гидрофильной мембраной (PTFE) и размером пор 0,2 мкм.

Идентификацию и количественное определение проводили на тандемной системе Agilent 1290 Infinity LC/Agilent Triple Quad 6460 с применением электростатического распыления в режиме динамического мониторинга множественных реакций (dMRM). Разделение происходило на хроматографической колонке ZORBAX Eclipse Plus C18 длиной 150 мм (внутренний диаметр 2,1 мм, зернение 1,8 мкм). Применён градиентный режим элюирования компонентов подвижной фазы при скорости потока элюента 0,4 мл/мин согласно МУК 4.1.3657–20¹.

Для проведения работ использованы образцы аналитических стандартов имазазила, пириметанила, прохлоразы, имдаклоприда, тиабендазола, пирипроксифена, трифлуксистробина и азоксистробина с содержанием основных компонентов более 97%. Для количественного определения готовили индивидуальные стандартные растворы контролируемых аналитов (концентрация 100 мкг/мл), последовательным разбавлением получали рабочие растворы для калибровки, содержащие вещества в диапазоне концентраций 0,01–0,1 мкг/мл. Применяемые растворители и реактивы включали ацетонитрил, метанол, деионизированную воду и муравьиную кислоту высокой степени очистки для ВЭЖХ-МС. Поскольку обнаруженные уровни нескольких пестицидов превышали верхний диапазон определения методики (0,1 мг/кг), было проведено кратное разбавление экстрактов ацетонитрилом до достижения концентраций, соответствующих линейному диапазону калибровки.

Для реализации методики QuEChERS использовали коммерческие наборы VetexQ (кат. № PL-5650-5156), предназначенные для определения остаточных количеств пестицидов в образцах фруктов и овощей, содержащих жиры и парафины, зерна, комбикормов при контроле продуктов питания.

Наборы включают в себя все необходимые компоненты для быстрой подготовки проб: комплекты солей и сорбентов, а также полипропиленовые центрифужные пробирки с крышками на 50 и 15 мл. Для эффективной экстракции применяли аппарат для встряхивания проб вихревой (шейкер) фирмы Heidolph (Германия), для лучшего разделения фаз — лабораторную роторную центрифугу фирмы Eppendorf, скорость вращения до 12 000 об./мин. Перед анализом проб выполняли проверку градуировочных характеристик на стабильность для каждого из действующих веществ по двум растворам для калибровки из диапазона линейности. Это дало возможность максимально исключить процедурные, приборные потери и учитывать лишь связанные с условиями и продолжительностью хранения.

Результаты

Известно, что такие действующие вещества, как пириметанил, имазазили и прохлораз, применяются не только до, но и после сбора урожая citrusовых. Используются различные послеуборочные техники: распыление, окунание плодов и т. д. [7]. Обнаружение нами в плодах мандаринов, апельсинов, грейпфрутов и лимонов этих пестицидов на уровнях более 0,1 мг/кг указывает на вероятное использование послеуборочной обработки плодов для сохранения свежести до их поступления потребителю.

Испытания на стабильность при хранении допускают использование образцов продуктов, обработанных пестицидами и имеющих достаточно высокие концентрации в пробе, что позволяет количественно оценить любое наблюдаемое изменение уровней во времени. При обнаружении таких концентраций в лаборатории появилась уникальная возможность экспериментально оценить стабильность действующих веществ в натуральных образцах, контаминированных остаточными количествами пестицидов, при их длительном хранении (до 30 мес) в условиях глубокой заморозки.

Все плоды citrusовых культур считаются сложными матрицами для определения остаточных количеств пестицидов. Повышенная кислотность и содержание в кожуре большого количества пектинов и сложных ароматических соединений приводят к высоким матричным эффектам и осложняют процедуру идентификации [8]. Технология подготовки проб в соответствии с МУК 4.1.3657–20 сводит к минимуму матричный эффект и позволяет получить приемлемые степени извлечения всех изучаемых аналитов.

Показанное при валидации метода значение эффекта матрицы при применении данной технологии не превысило 20%, что соответствует рекомендациям международного документа [3]. Количественную оценку уровней действующих веществ проводили по градуировочным характеристикам, построенным для каждого анализа, представляющим зависимость площади пика (S) от его концентрации в растворе (C , мкг/мл) с коэффициентом корреляции более 0,99.

Анализ проб на содержание действующих веществ пестицидов проведён непосредственно после измельчения образцов (нулевой день) и через 30 мес после закладки на хранение в условиях глубокой заморозки. Результаты анализа четырёх видов цитрусовых культур представлены в таблице.

По представленным результатам видно, что изучаемые анализы стабильны в течение всего срока хранения. В зависимости от вида цитрусовых изменение концентраций при хранении проб находилось в диапазоне от 2,2% (мандарин) до 13,3% (грейпфрут) для имазалила; от 1,3% (грейпфрут) до 18,6% (апельсин) для пириметанила; от 11,8% (грейпфрут) до 14,2% (мандарин) для прохлораза; от 10% (мандарин) до 20% (лимон) для имидаклоприда. Для тиабендазола и пирипроксифена потери в лимонах составили соответственно 20,5 и 2,9%.

Таким образом, через 30 мес хранения образцов цитрусовых в условиях глубокой заморозки (температура не выше минус 20 °C) идентифицированные уровни действующих веществ пестицидов имазалила, пириметанила, прохлораза, имидаклоприда и пирипроксифена изменились не более чем на 20% по сравнению с ранее обнаруженными концентрациями, потери тиабендазола превысили 20% на 0,5%. Выявленные следы тиабендазола, азоксистробина и трифлуксистробина в некоторых видах цитрусовых при исследовании образцов также обнаружены в пробах после длительного хранения.

Обсуждение

Необходимость импорта плодов цитрусовых культур в Российскую Федерацию обусловлена природно-климатическими условиями, которые не позволяют полноценно возделывать эти культуры в нашей стране [9, 10].

Обработка цитрусовых культур пестицидными препаратами происходит как во время созревания плодов (инсектицидные и фунгицидные составы для борьбы с вредителями и болезнями), так и после сбора урожая для сохранения свежести продукции до реализации потребителю (в основном это фунгициды, препятствующие образованию и развитию грибковых болезней) [11].

Прохлораз представляет собой имидазольный фунгицид широкого спектра действия, активный в отношении целого ряда болезней полевых культур, фруктов и овощей, используемый для обработки фруктов после сбора урожая. Методы послеплодочной обработки для цитрусовых включают погружение плодов на 30–120 с в водные растворы прохлораза, опрыскивание в сочетании с воском или обработку кистью [12, 13].

Имазалил – имидазольный фунгицид с защитным, лечебным и противоспоробразующим действием. Технологии его применения на цитрусовых культурах включают послеплодочную обработку составами, содержащими от 75 до 500 г/л действующего вещества. Это пропитка окунанием, обливание или распыление водных растворов, пропитка в сочетании с дальнейшей промывкой и сушкой, использование опрыскивания воском, содержащим 2 г/л имазалила, распыление воска в виде концентрата суспензии, содержащей 400–500 г/л действующего вещества, и т. д. [14, 15].

Пириметанил – это анилинопиримидиновый фунгицид, который негативно влияет на возможность фитопатогенов проникать в ткани растений, разлагать их и перерабатывать и тем самым предотвращает процесс инфицирования. Применяется как до, так и после сбора урожая. Предпоборочное применение пириметанила чаще всего проводится на лимонах путём опрыскивания листьев, разрешается проводить

до четырёх обработок с интервалом в семь дней. Послуплодочная обработка цитрусовых включает опрыскивание урожая препаратом с концентрацией действующего вещества 400 г/л, погружение плодов или промывку, распыление с парафином и др. [16].

Тиабендазол является системным фунгицидом класса бензимидазолов. Используется для обработки против возбудителей болезней на плодовых, овощных и зерновых культурах, а также при закладке на хранение. Наносится на цитрусовые после сбора урожая различными способами: в виде распыления в смеси с воском, нанесения на спелые плоды или на зелёные плоды с их повторным опрыскиванием спустя два дня, смачивания в течение 30 с. Применяют также двойную послеплодочную обработку (полив плюс опрыскивание) и различные схемы, чередующие пропитку, обливание и распыление [17].

Актуальные схемы применения фунгицидных препаратов для послеплодочной обработки цитрусовых включают составы, содержащие одновременно имазалил и пириметанил или тиабендазол. Например, комбинация пириметанила (200 г/л) с имазалилом (200 г/л) применяется для обработки лимонов окунанием или нанесением водного спрея, сочетание имазалила (75 г/л) с тиабендазолом (225 г/л) работает при погружении на 25–30 с или при обливании плодов цитрусовых, а смесь пириметанила (204 г/л) с имазалилом (263 г/л) используется для подкожных инъекций апельсинов, лимонов, мандаринов и грейпфрутов [15, 16].

Пирипроксифен – инсектицид кишечного и контактного действия из группы аналогов ювенильного гормона, препятствующий нормальному развитию и размножению насекомых. Рекомендован для применения на цитрусовых культурах путём обработки деревьев с помощью ручных опрыскивателей или распылителей [18].

Имидаклоприд является системным инсектицидом класса неоникотиноидов, длительное время успешно используется для обработки сельскохозяйственных культур. Обладает широким спектром действия, особенно против сосущих насекомых, различных видов жуков, некоторых видов мух и листовых минёров. Акропетальное перемещение действующего вещества по растению является важной предпосылкой для почвенных обработок. На цитрусовых деревьях применяется чаще всего путём опрыскивания листьев составами, содержащими 100–350 г/л действующего вещества, с интервалами обработки от 7 до 130 дней [19].

Трифлуксистробин и *азоксистробин* являются фунгицидами, относящимися к классу стробилуринов. Свою фунгицидную активность проявляют, угнетая митохондриальное дыхание грибов. Используются на многих сельскохозяйственных и садовых культурах, выращиваемых в открытом грунте или защищённых стеклом или пластиком, в умеренном, субтропическом и тропическом климате [20]. По технологии применения листья цитрусовых деревьев опрыскивают составами, содержащими 250–500 г/кг действующего вещества трифлуксистробина. Применяют до четырёх обработок за сезон, схемы использования отличаются интервалами и нормами расхода. Препараты на основе азоксистробина чаще используют после сбора урожая, хотя возможны и внекорневые обработки несколько раз за сезон.

Для вышеперечисленных пестицидов Совместным советом представителей ФАО/ВОЗ по остаткам пестицидов (JMPR) опубликованы данные по их остаточным количествам в цитрусовых согласно технологиям применения [21]. Во всех исследованиях учитывали массу образцов, кожуру и мякоть плодов анализировали отдельно с последующим расчётом на целый плод. Во всех анализах наибольшее содержание действующего вещества выявлено в кожуре, содержание в мякоти в разы, а иногда и в десятки раз меньше. Обнаружено, что сорбция тиабендазола происходит наружной поверхностью без проникновения внутрь мясистой ткани. При всех технологиях применения для пирипроксифена представлены результаты по содержанию в мякоти менее 0,01 мг/кг, вещество обнаруживалось в основном в кожуре.

Использование послеуборочных технологий, таких как окунание, опрыскивание и др., обуславливает присутствие остатков действующих веществ в продукции, что нашло отражение в гигиенических нормативах: пирипроксифен — 0,5 мг/кг, трифлуксистробин — 0,7 мг/кг, имидаклоприд — 1 мг/кг, тиабендазол и имазалил — 5 мг/кг, пириметанил — 7 мг/кг, азоксистробин — 9 мг/кг, прохлораза — 10 мг/кг (СаПиН-1.2.3685–21)². Некоторые нормативы являются временными (временные максимально допустимые уровни для импортируемой продукции).

При проведении исследований важна стадия выделения репрезентативной части пробы. Величину образца для анализа следует выбирать исходя из используемого аналитического метода и эффективности перемешивания. При этом надо учитывать, берётся ли продукт на анализ целиком или нужна предварительная подготовка по установленным процедурам (очистка от кожуры, удаление косточек и т. д.). Причём в зависимости от вида цитрусовых массовая доля кожуры может значительно колебаться: от 24% (мандарины) до 60–65% (отдельные сорта помело) [22]. В соответствии с позицией Комиссии Кодекс Алиментариус плоды цитрусовых культур берутся в анализ целиком [23]. Методы измельчения и перемешивания не должны влиять на остаточное содержание пестицидов в анализируемой пробе. При обработке образцов в специальных куттерах с использованием сухого льда (криогенное измельчение) нами был получен необходимый уровень гомогенизации пробы, а негативное влияние процессов обработки сводилось к минимуму. Образцы мандаринов, апельсинов, лимонов и грейпфрутов были подвергнуты гомогенизации целиком, без разделения на кожуру и мякоть, так как максимально допустимые уровни изучаемых аналитов установлены для целых плодов цитрусовых культур.

В результате проведённого нами исследования в четырёх видах цитрусовых культур (лимоны, апельсины, мандарины, грейпфруты) показана стабильность действующих веществ имазалила, прохлораза, пириметанила, имидаклоприда, тиабендазола и пирипроксифена при их совместном присутствии в пробе при хранении в течение 30 мес при температуре не выше минус 20 °С. Присутствие в пробах азоксистробина и трифлуксистробина в следовых количествах на пределе детектирования выявлено как до закладки образцов на длительное хранение, так и после 30 мес эксперимента.

Полученные результаты согласуются с информацией, представленной в отчётах совместных совещаний ФАО/ВОЗ по остаткам пестицидов [21], в которых приведены данные о стабильности действующих веществ при хранении продукции. Согласно опубликованным данным, подтверждена стабильность прохлораза, азоксистробина и трифлуксистробина в цитрусовых при хранении в морозильной камере (при температуре от минус 18 до минус 20 °С) в течение 24 мес. Остатки пириметанила при хранении в замороженном состоянии стабильны (потери составляют менее 30%) в течение не менее 12 мес. Образцы цитрусовых, обогащённые тиабендазолом, хранились в замороженном виде (при температуре минус 20 °С) в течение девяти месяцев, обогащён-

ные имазалилом — чуть более восьми месяцев, пирипроксифеном — около четырёх месяцев. Согласно приведённым данным, существенных потерь действующих веществ за это время не выявлено. Исследования стабильности имидаклоприда и его метаболитов при хранении в различных растительных матрицах, в том числе плодах цитрусовых, показали стабильность их уровней в течение 36 мес при температуре не выше минус 18 °С. Это подтверждает стабильность данных соединений в образцах цитрусовых при хранении проб в замороженном виде, однако в литературных источниках не рассматривается совместное присутствие этих веществ в пробах.

Заключение

Обоснование условий хранения, не допускающих изменения уровней остаточных количеств действующих веществ пестицидов в отобранных для испытаний образцах пищевой продукции до их поступления в лабораторию и при последующем анализе, является важной составляющей аналитического контроля.

Большая часть образцов предполагает транспортировку с места отбора в лабораторию, а также хранение до начала анализа. Зачастую необходимо принимать меры, чтобы сохранить образцы охлаждёнными во время перемещения (например, с использованием хладоэлементов, сухого льда в качестве хладоагента и др.). В последующем температура хранения должна быть минус 18 °С или ниже, исключено попадание света, провоцирующего фотохимические реакции. Для пестицидов с известной нестабильностью с целью сохранения продукции используют более низкие температуры (ниже минус 20 °С), а также рассматривают возможность перевода пробы в экстракт и хранение экстрактов в замороженном виде в растворителе. В отдельных случаях актуально хранение нескольких форм продукции, например, гомогенизированного образца и экстракта [2].

Правильное хранение должно обеспечивать сохранение уровней действующих веществ в пробах и исключать их изменение вследствие различных процессов (улетучивания, ферментативного разложения и др.). Для различных матриц и действующих веществ существуют ориентировочные временные рамки и условия. Тем не менее при наличии общих требований поддержания сохранности для групп продуктов (в том числе на основании международных документов [1]) надлежит исследовать влияние условий хранения на стабильность отдельных действующих веществ пестицидов в пробах при необходимости их длительного хранения для разрешения спорных вопросов, проведения подтверждающих испытаний.

В настоящем исследовании показана стабильность остаточных количеств имазалила, пириметанила, прохлораза, имидаклоприда, тиабендазола и пирипроксифена при совместном присутствии в плодах цитрусовых культур. Условия хранения: морозильный ларь, температура не выше минус 20 °С, продолжительность хранения 30 мес.

Подобные натурные пробы, загрязнённые остаточными количествами нескольких пестицидов и имеющие подтверждённые допустимые сроки хранения, дополнительно могут служить хорошим материалом для межлабораторных сравнительных испытаний, направленных на подтверждение компетентности как испытательной лаборатории, так и отдельных специалистов.

Литература

(п.п. 1–8, 11–21, 23 см. References)

9. Джанчарова Г.К., Мухаметзянов Р.Р., Платоновский Н.Г., Арзамасцева Н.В., Иванцова Н.Н., Васильева Е.Н. и др. Россия и другие страны мира в международной торговле цитрусовыми фруктами. *Московский экономический журнал*. 2021; (12): 467–87. <https://doi.org/10.24412/2413-046X-2021-10727> <https://elibrary.ru/aeprlt>
10. TrendEconomy. Годовая статистика международной торговли товарами (HS). Россия. Импорт и экспорт. Цитрусовые фрукты. 2010–2021 гг. Доступно: <https://trendeconomy.ru/data/h2/Russia/0805>
22. Даньков В.В., Скрипниченко М.М., Горбачева Н.Н. *Субтропические культуры*. СПб.: Лань; 2014. <https://elibrary.ru/ljsjbj>

References

1. CAC (Codex Alimentarius Commission). Guidelines on Good Laboratory Practice in Pesticide Residue Analysis; CAC/GL 40-1993, Rev.1-2003.
2. OECD iLibrary. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 5. Test No 506: Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities; 2007. Available at: <https://doi.org/10.1787/9789264061927-en>
3. 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/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11312_2021.pdf
4. FAO. Reports and Evaluations on Pesticide Residues. Available at: <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/guidelines-standards/faowho-joint-meeting-on-pesticide-residues-jmpr/reports/en/>
5. Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher D., Schenck F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.* 2003; 86(2): 412–31.
6. BS EN 15662:2018. Foods of plant origin. Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE. Modular QuEChERS-method; 2018.
7. Wang Z., Sui Y., Li J., Tian X., Wang Q. Biological control of postharvest fungal decays in citrus: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2022; 62(4): 861–70. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1829542>
8. Lehotay S.J., Son K.Ae., Kwon H., Koesukiwat 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>
9. Dzhancharova G.K., Mukhametzyanov R.R., Platonovskiy N.G., Arzamastseva N.V., Ivantsova N.N., Vasil'eva E.N., et al. Russia and other countries in the international citrus fruit trade. *Moskovskiy ekonomicheskij zhurnal.* 2021; (12): 467–87. <https://doi.org/10.24412/2413-046X-2021-10727> <https://elibrary.ru/aeprlt> (in Russian)
10. TrendEconomy. Annual statistics of international trade in goods (HS). Russia. Import and export. Citrus fruits. 2010–2021. Available at: <https://trendeconomy.ru/data/h2/Russia/0805> (in Russian)
11. Schirra M., D'Aquino S., Palma A., Angioni A., Cabras P., Migheli Q. Residues of the quinone outside inhibitor fungicide trifloxystrobin after postharvest dip treatments to control *Penicillium* spp. on citrus fruit. *J. Food Prot.* 2006; 69(7): 1646–52. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-69.7.1646>
12. FAO specifications and evaluations for agricultural pesticides. Prochloraz. Available at: <https://www.fao.org/3/ca9623en/ca9623en.pdf>
13. Lunn D. Prochloraz (142). New Zealand Food Safety Authority, New Zealand. Available at: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/IPM_Pesticide/JMPR/Evaluations/2004/Prochloraz.pdf
14. FAO specifications and Evaluations for Plant Protection Products. Imazalil. Available at: <https://www.fao.org/3/ca9640en/ca9640en.pdf>
15. Thomas M. Imazalil (110). Pest Management Regulatory Agency, Canada. Available at: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/IPM_Pesticide/JMPR/Evaluations/2018/Imazalil_110_.pdf
16. Funk S. Pyrimethanil (226) Health Effects Division, US Environmental Protection Agency, Washington. Available at: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/IPM_Pesticide/JMPR/Evaluations/2007/Pyrimethanil.pdf
17. Lentza-Rizos C. Thiabendazole (065). National Agricultural Research Foundation, Greece. Available at: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/IPM_Pesticide/JMPR/Evaluations/2006/Thiabendazole.pdf
18. FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides. Pyriproxyfen. Available at: <https://www.fao.org/3/ca9614en/ca9614en.pdf>
19. FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides. Imidacloprid. Available at: <https://www.fao.org/3/19929EN/i9929en.pdf>
20. Barlett D.W., Clough J.M., Godwin J.R., Hall A.A., Hamer M., Parr-Dobrzanski B. The strobilurin fungicides. *Pest Manag. Sci.* 2002; 58(7): 649–62. <https://doi.org/10.1002/ps.520>
21. List of Pesticides evaluated by JMPR and JMPS. Available at: <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/guidelines-standards/faowho-joint-meeting-on-pesticide-residues-jmpr/pesticides-evaluated-by-jmpr-jmps/en/>
22. Dan'kov V.V., Skripnichenko M.M., Gorbacheva N.N. *Subtropical Cultures [Subtropicheskie kul'tury]*. St. Petersburg: Lan'; 2014. <https://elibrary.ru/ljibq> (in Russian)
23. CAC (Codex Alimentarius Commission). Analysis of Pesticide Residues: Portion of Commodities to which Codex MRLs Apply and which is Analyzed; CAC/GL 41-1993.