

УДК 543.544.3

МЕЛЬНИЧУК С.Д., ЛОХАНСЬКА В.Й., БАРАНОВ Ю.С., БІЛОУС А.О.

ПРОБЛЕМИ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЗАЛИШКІВ ПЕСТИЦИДІВ У ЗЕРНОВІЙ ПРОДУКЦІЇ ТА ШЛЯХИ ЇХ ВИРІШЕННЯ

Враховуючи стратегічне значення зернової галузі України, необхідно переглянути підходи до контролю показників безпеки, зокрема залишків пестицидів у зерновій продукції, для забезпечення галузі сучасними експрес-методиками, що відповідають європейським стандартам.

З цією метою проведено порівняльний аналіз методик визначення залишків пестицидів у зерні та продуктах його переробки, гармонізованих в Україні та таких, що використовуються в країнах ЄС. Показана доцільність створення методик визначення комплексів пестицидів у зерні на базі стандартної європейської методики EN 15662:2008 (QuEChERS) з використанням ГРХ/МС, ТІД, ДЕЗ та ВЕРХ/МС/МС/ФДМ.

Ключові слова: залишки пестицидів, зернова продукція, методика аналізу

Учитывая стратегическое значение зерновой отрасли Украины, необходимо пересмотреть подходы к контролю показателей безопасности, в частности остатков пестицидов в зерновой продукции, для обеспечения отрасли современными экспрес-методиками, отвечающими европейским стандартам.

С этой целью проведён сравнительный анализ методик определения остатков пестицидов в зерне и продуктах его переработки, гармонизированных на Украине и используемых в странах ЕС. Показана целесообразность разработки методик определения комплексов пестицидов в зерне на базе стандартной европейской методики EN 15662:2008 (QuEChERS) с использованием ГЖХ/МС, ТИД, ДЭЗ и ВЭЖХ/МС/МС/ФДМ.

Ключевые слова: остатки пестицидов, зерновая продукция, методика анализа

Taking into account that cereal branch is important part of Ukrainian's export it is necessary to revise the approaches to control of quality indices especially of pesticides residues in grain in order to provide the branch with modern express methods which meet the requirements of European standards. Comparative analysis of methods for determination of pesticide residues in grain and in processing products which were harmonized in Ukraine and those used in EU countries was conducted. It is reasonable to create the methods for the determination of pesticide residues complexes in grain on the basis of standard European method EN 15662:2008 (QuEChERS) using GLC/MS,ECD,NPD and HPLC/MS/MS/PAD.

Keywords: pesticides residues, grain, analysis method

Україна є однією з найбільших виробників та експортерів зерна в Європі, збираючи щорічно 35-40 млн тонн. Виробництво, переробка і експорт зерна дають суттєві грошові надходження до бюджету України і є важливими секторами працевлаштування населення країни. На сьогоднішній день потенціал зернової галузі України оцінюється в 80-100 млн тонн щорічного виробництва зерна і олійних культур. Ці експортні можливості та політика України спрямовані на європейську інтеграцію та активну співпрацю у Світовій Організації Торгівлі (СОТ), що вимагає гармонізації нормативних і регулюючих актів України відповідно до її вимог, зокрема у сфері оцінки і контролю якості та безпеки сільськогосподарської продукції.

Впровадження новими членами ЄС європейських стандартів і норм технічного, санітарного, фітосанітарного, ветеринарного контролю дало негативний ефект для України, який оцінюється сумою 60 млн доларів США, а загальні збитки від можливої втрати ринків сільськогосподарської продукції – на рівні 300-400 млн доларів США.

При цьому слід враховувати, що європейські стандарти якості стають дедалі жорсткішими, і це може створити серйозний бар'єр у сфері торгівельних відносин між Україною і ЄС. Вищезгадане стосується стандартів на методи визначення залишкових кількостей пестицидів, мікотоксинів, поліароматичних вуглеводнів (ПАВ), поліхлорованих біфенілів (ПХБ), діоксинів та інших ксенобіотиків. Тому, впровадження існуючих міжнародних та удосконалення вітчизняних стандартизованих методів контролю показників безпеки зернових культур з метою їх гармонізації з європейськими та міжнародними вимогами є актуальним завданням [1]. На сьогоднішній день в Україні діють декілька стандартів по визначенню хлороорганічних (ХОП), фосфорорганічних (ФОС) пестицидів, синтетичних піретроїдів, карбаматів, сим-триазинів, ацетанілідів та пестицидів інших класів у продукції АПК, у тому числі і в зерновій (табл.1). Дані наведено у табл. 1, 2.

Таблиця 1

Залишки пестицидів, які визначають за ДСТУ EN 12393: 1,2,3-2003 [8]

Клас пестицидів	Хімічна група	Кількість
Інсектициди, акарициди	ФОС	55 (6)
	Синтетичні піретроїди	13
	ХОП	18 (15)
Фунгіциди та препарати для протруювання насіння, гербіциди	Триазоли	2
	Карбамати	3
	Піримідини	2
	Фталіміди	4
	Ацетаніліди	4
	Сим-триазини	8
	Динітроаніліни	4
	Ацетамід	2
	Урацили	2
	Нітродифен. ефіри	2
	Не клас. пестициди	10

Таблиця 2

Методики, згідно яких проводять визначення залишків пестицидів у зерні та продукції його переробки в Україні

Компонент, який визначається	Стандарт	Назва
Масова частка залишкових кількостей пестицидів	ДСТУ EN 12393-1, 2, 3 : 2003	Продукти харчові нежирові. Визначення вмісту залишків пестицидів газохроматографічним методом.
Масова частка залишкових кількостей хлорорганічних пестицидів	ДСТУ ISO 14181:2003 (ISO 14181:2000, IDT)	Корми для тварин. Визначення залишків хлорорганічних пестицидів. Метод газової хроматографії
Масова частка залишкових кількостей фосфорорганічних пестицидів	ДСТУ ISO 14182:2006 (ISO 14182:1999, IDT)	Корми для тварин. Визначення залишків фосфорорганічних пестицидів. Метод газової хроматографії
Масова частка залишкових кількостей Дитіокарбамату та тіурамдисульфиду	ДСТУ EN 12396-2:2003 EN 12396-2:1998, IDT	Продукти харчові нежирові. Визначення залишкових кількостей дитіокарбамату та тіурамдисульфиду. Частина 2. Газохроматографічний метод
Масова частка залишкових кількостей пестицидів та поліхлорованих біфенілів (ПХБ)	МУ 59-97; МУ 75-97; МВ 162-99; МВ 236-2001; МВ 401-2003; МВ 418-2003; МВ 522-2004; МВ 642-2006; МВ 1541-76; МВ 2142-80; МВ 2473-81; МВ 3222-85; МВ 4120-86; МВ 4335-87; ТМВ 6080-91	

Незважаючи на те, що деякі стандартні методики були переглянуті у 2008 році Європейським комітетом зі стандартизації (CEN) [2], більшість з них досі не гармонізовані в Україні. Перелік переглянутих методів визначення залишків пестицидів у зерні та продуктах його переробки наведено у табл. 3.

Таблиця 3

Методики, згідно яких проводять визначення залишків пестицидів у зерні та продукції його переробки в ЄС

Об'єкт аналізу	Стандарт	Назва
Харчові продукти	CEN/TR 15641:2007	Food analysis - Determination of pesticide residues by LC-MS/MS - Tandem mass spectrometric parameters
Продукти харчування рослинного походження	EN 12393-1,2,3:2008	Foods of plant origin - Multiresidue methods for the gas chromatographic determination of pesticide residues - Part 1: General considerations
Харчові продукти з низьким вмістом жиру	EN 12396-1,2,3:1998	Non-fatty foods - Determination of dithiocarbamate and thiuram disulfide residues - Part 1: Spectrometric method
Харчові продукти з низьким вмістом жиру	EN 13191-1,2:2000	Non-fatty food - Determination of bromide residues - Part 1: Determination of total bromide as inorganic bromide

Харчові продукти з низьким вмістом жиру	EN 14185-1,2:2003	Non-fatty food - Determination of N-methylcarbamate residues - Part 1: HPLC-method with SPE clean-up
Харчові продукти з низьким вмістом жиру	EN 14333-1,2,3:2004	Non fatty foods - Determination of benzimidazole fungicides carbendazim, thiabendazole and benomyl (as carbendazim) - Part 1: HPLC method with solid phase extraction clean up
Харчові продукти з низьким вмістом жиру	EN 15054:2006	Non fatty foods - Determination of chlormequat and mepiquat - LC-MS method
Харчові продукти з низьким вмістом жиру	EN 15055:2006	Non fatty foods - Determination of chlormequat and mepiquat - LC-MS/MS method
Продукти харчування рослинного походження	EN 15637:2008	Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using LC-MS/MS following methanol extraction and clean-up using diatomaceous earth
Продукти харчування рослинного походження	EN 15662:2008	Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE - QuEChERS-method

Стандартні методики, що застосовуються для контролю залишків пестицидів у зернових культурах на Україні, є надто ресурсовитратними та не відповідають сучасним вимогам до аналітичних методів за параметрами охорони довкілля та ресурсозбереження, зокрема, не дозволяють визначити залишки усіх 89-ти пестицидів (табл..4), зареєстрованих нині в Україні та дозволених до застосування на зернових і кормових культурах, згідно діючого Переліку [3].

Таблиця 4

Пестициди, дозволені до використання на зернових культурах України, згідно діючого Переліку [3]

Клас пестицидів	Хімічна група	Кількість
Інсектициди, акарициди	ФОС	8
	Синтетичні піретроїди	8
	Неоникотиноїди	3
Фунгіциди та препарати для протруювання насіння, гербіциди	Триазоли	15
	Карбамати	6
	Ефіри припіонової кислоти	4
	Феноксиланкарбонові кислоти	5
	Сульфонілсечовини	12
	Ацетаніліди	2
	Динітроаніліни	2
Пестициди інших класів та неklasифіковані		24

Залишки пестицидів, що належать до більш ніж 20 хімічних груп, контролюється згідно індивідуальних методик, які розроблені фірмами – виробниками пестицидів або організаціями, що проводять випробування пестицидів [4,5,6,7].

Сучасний розвиток аналітичної хімії пестицидів спрямовано на удосконалення діючих та розробку методик, згідно яких в одному зразку визначається полікомпонентний вміст стійких органічних забруднювачів (СОЗ), залишків заборонених, а також згідно переліку рекомендованих на тій чи іншій культурі пестицидів.

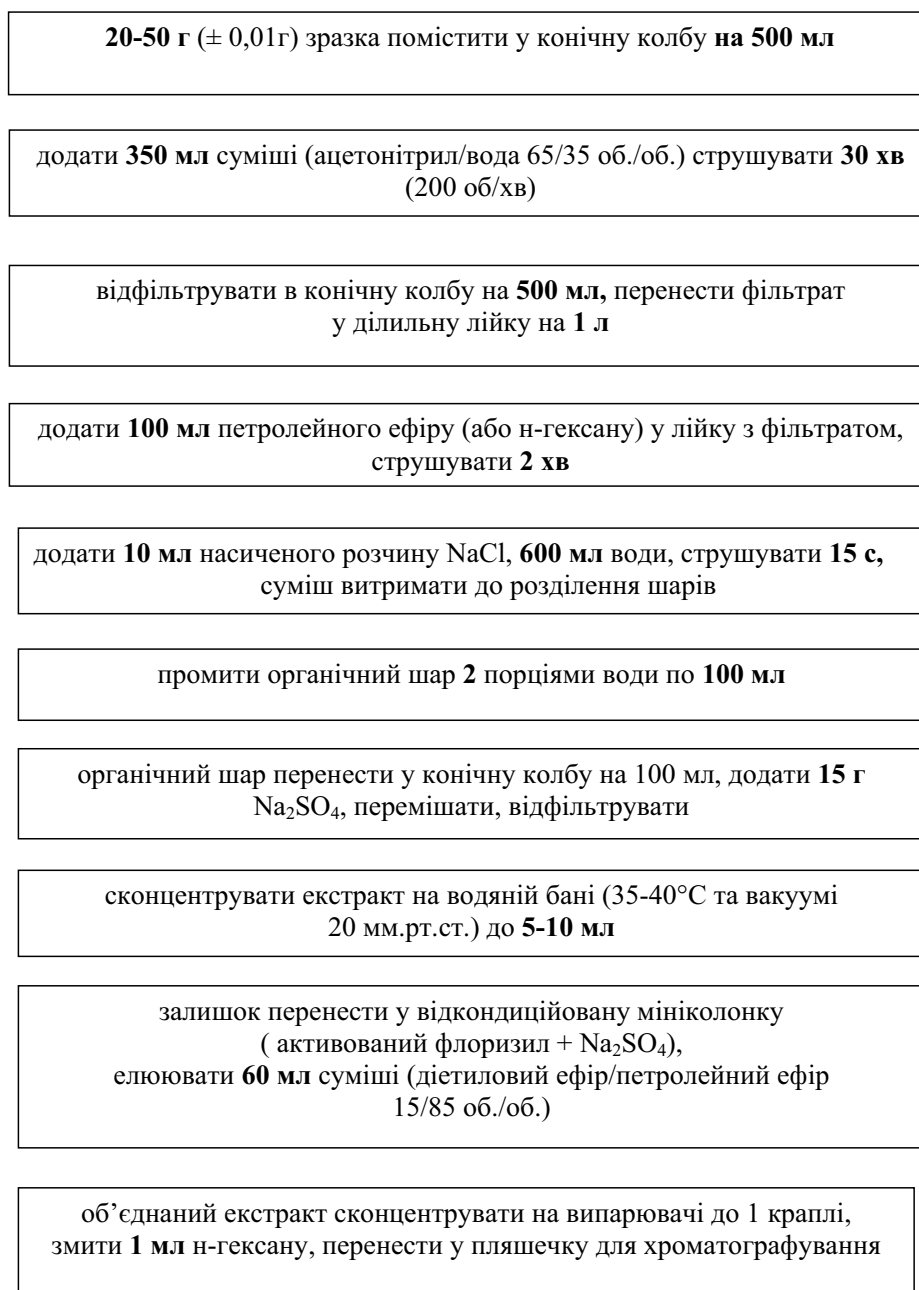


Рис. 1. Блок-схема пробопідготовки для проведення дослідження зернових на залишки пестицидів

В Українській лабораторії якості та безпеки продукції АПК (УЛЯБП АПК) Національного університету біоресурсів та природокористування України (НУБіП України) апробовано, внесено зміни та валідовано методику визначення залишків пестицидів у зерновій продукції ДСТУ EN 12393-1,2,3:2003 [8]. Блок-схема методики наведена на рис. 1.

Методику було модифіковано на стадії очищення екстрактів методом колонкової хроматографії. Зокрема, замість спеціально виготовленої хроматографічної ко-

лонки 300 x 22 мм з краном з ПТФЕ, що містила 100 мм активованого флоризилу та 20 мм сульфату натрію, застосовували швидкісну міні-хроматографічну колонку з тефлону (виробник "УСТ") 80 x 20 мм, емн. 25 мл з двома фрїтами, яка використувалась разом з пристроєм для твердофазної екстракції – манїфолдом (виробник "Waters") та вакуумною помпою (виробник "Millipor"). Елюювання виконували 70 мл суміші петролейного і диетилового ефірів (85/15 об.). Застосований метод значно скоротив час очищення екстрактів. Валідацію методу проводили згідно вимог Директиви 2002/657/ЕС [9]. Отримані валідаційні характеристики, наведені у табл. 5, відповідали критеріям, що визначені Директивою 2002/657/ЕС. Протокол валідації було затверджено відповідним чином та надано аудиторам під час проведення акредитації УЛЯБП АПК.

Таблиця 5

Результати валідації ДСТУ EN 12393-1,2,3:2003 [8]

Метрологічні характеристики	γ -ГХЦГ	алдрин	4,4'-ДДЕ	4,4'-ДДД	4,4'-ДДТ
	0,5 МДР				
X _{CP}	0.014	0.011	0.009	0.010	0.010
СКВ	0.001	0.002	0.001	0.002	0.002
CV, %	8.160	16.570	13.200	19.200	18.500
повернення, %	115.0	105.0	90.5	96.5	101.0

Під час апробації та валідування методики ДСТУ EN 12393-1,2,3:2003 було встановлено певні недоліки. А саме: значна тривалість (близько 18 годин на серію з трьох зразків), недостатній перелік пестицидів, залишки яких визначаються, великі витрати органічних розчинників (загальний об'єм близько 800 мл на один зразок), флоризилу, сульфату та хлориду натрію, енергоресурсів, велика кількість хімічного посуду та час експлуатації обладнання. Крім того, застосування хроматографії флоризилу з метою очищення екстрактів, не дозволяє отримати аналіти достатнього ступеня чистоти для використання ГРХ/МС з іонною пасткою. На хроматограмах, отриманих при аналізі екстрактів, очищених на флоризилі, наявні елементи матриці, що заважає ідентифікації та кількісному визначенні ХОП у зерновій продукції. Для ідентифікації та кількісного визначення застосовували методи ГРХ/МС та ГРХ/ДЕЗ.

Заміна флоризилу на окис алюмінію другого ступеня активності по Брокману, дозволяє отримати хроматограми з відсутністю ефекту матриці. При цьому інші, перераховані вище недоліки методики ДСТУ EN 12393-1,2,3:2003, залишаються.

Сучасна методика визначення комплексу пестицидів у сільськогосподарській сировині з пробопідготовкою за методом QuEChERS, EN 15662:2008 [10], позбавлена вищезгаданих недоліків, але не забезпечує достатньої чистоти кінцевих аналітів для використання ГРХ/МС з іоною пасткою. Окрім того, методика EN 15662:2008 не гармонізована до стандартів України.

В УЛЯБП АПК проведено дослідження по використанню експрес-методики з пробопідготовкою QuEChERS для визначення ХОП у зерновій продукції. Блок-схему експериментальної методики наведено на рис.2.

Реалізація цієї методики для визначення залишків 15 ХОП у зерні грубого помолу на рівні МДР показала переваги модифікованої методики EN 15662:2008 над ДСТУ EN 12393-1,2,3:2003. Про це свідчать дані, наведені у табл. 6, та порівняльний аналіз методів.

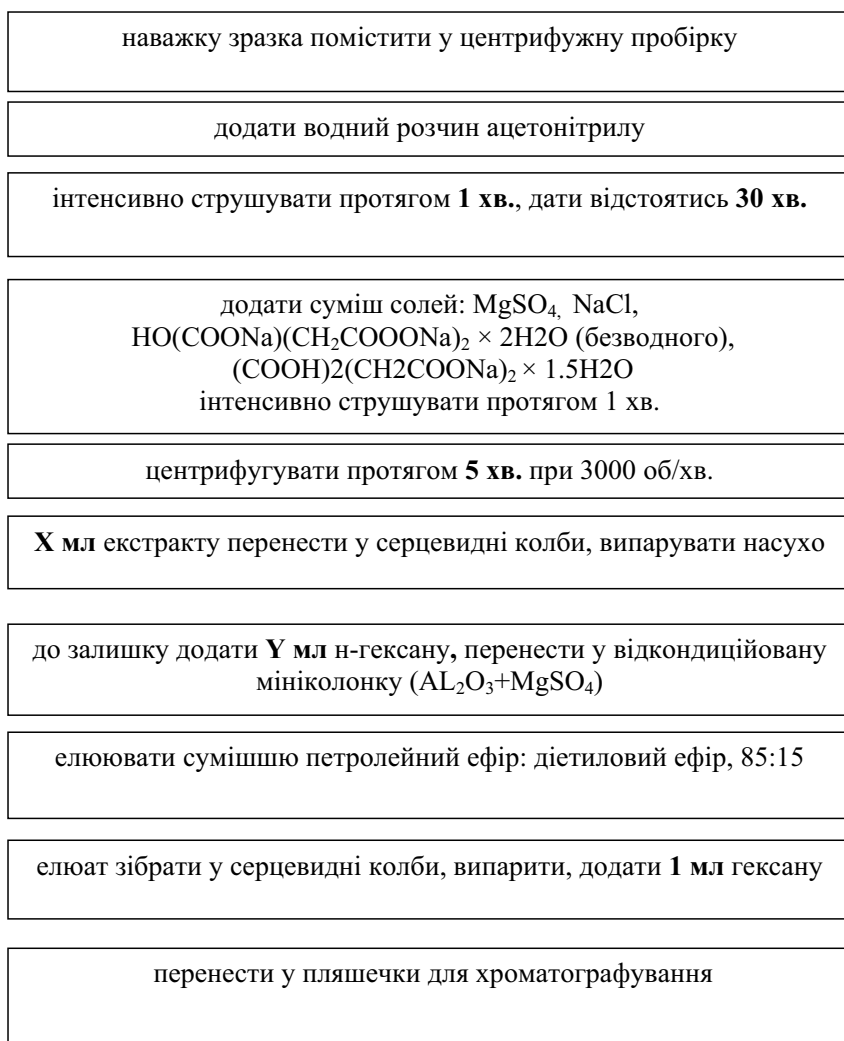


Рис.2. Блок-схема пробопідготовки для проведення дослідження зернових на залишки пестицидів

Таблиця 6

Показники повернення 15 ХОП (1 МДР) у зразках зерна, підготовлених за EN 15662:2008 [10]

	Пестицид	Повернення, %			СКО	X _{ср.} %
		1	2	3		
1	α-ГХЦГ	78,0	89,0	91,0	8,2	86,0
2	β-ГХЦГ	38,0	45,0	64,0	27,0	49,0
3	γ-ГХЦГ	81,0	93,0	95,0	8,6	89,6
4	гептахлор	83,0	94,0	93,0	6,7	90,0
5	алдрин	74,0	89,0	82,0	8,9	81,6
7	гептахлор-епоксид	86,0	99,0	101,0	8,7	95,3
8	ендосульфан-1	59,0	71,0	68,0	9,3	66,0
9	4,4'- ДДЕ	68,0	71,0	73,0	3,8	70,6
10	дилдрин	82,0	89,0	102,0	11,0	91,0
11	ендрин	71,0	85,0	82,0	9,4	79,3
12	4,4'- ДДД	69,0	74,0	70,0	3,7	71,0
14	4,4'- ДДТ	99,0	78,0	71,0	18,0	82,6
15	метоксихлор	33,0	41,0	39,0	11,0	37,7

Витрати часу на аналіз трьох зразків зерна не перевищували одну годину, загальні витрати органічних розчинників становили 70–80 мл, витрати сорбентів та мінеральних солей були також мінімальними, наявна значна економія енергоресурсів. При цьому метрологічні характеристики, що було отримано, відповідали вимогам Директиви 2002/657/ЕС, чистота кінцевих аналітів дозволяла застосовувати будь-який метод ідентифікації та кількісного визначення. На отриманих хроматограмах відсутній негативний вплив матриці.

Таким чином, вищенаведена аргументація дозволяє зробити наступні висновки:

- враховуючи стратегічне значення зернової галузі України, як важливої експортної складової, та для харчової безпеки країни, необхідно переглянути підходи до контролю показників безпеки, зокрема залишків пестицидів, у зерновій продукції;
- необхідно гармонізувати та впроваджувати сучасні методики визначення полікомпонентних залишків пестицидів у зерновій продукції;
- модифікацію методик по визначенню комплексу пестицидів у зерні доцільно проводити на базі сучасної методики EN 15662:2008 (QuEChERS).

ЛІТЕРАТУРА

1. *Бетлій М., Бородіна О., Бородін С. та ін.* Аграрний сектор України на шляху до євроінтеграції. – Ужгород: ІВА, 2006. – 496 с.
2. Analysis of pesticide residues: recommended methods.//CODEX STAN 229-1993, rev.1-2003.
3. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні на 2008 рік. Для масового користування – К.: Юнівест Медія, 2008. – 448с.
4. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: Справочник. /Сост. Клисенко М.А., Калинина А.А., Новикова К.Ф. и др. – М.: Колос, 1992. -Т.1. -567 с.
5. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. Справочник. /Сост. Клисенко М.А., Калинина А.А., Новикова К.Ф. и др. – М.: Агропромиздат, 1992. -Т.2 – 416 с.
6. Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в пищевых продуктах, кормах и внешней среде. – Киев. – Сб. № 1 – 34.
7. Методичні вказівки з визначення мікрокількостей пестицидів в харчових продуктах, кормах та навколишньому середовищі. – Київ, Зб. № 34 – 60.
8. ДСТУ EN 12393-1,2,3:2003 "Продукти харчові нежирові. Визначення вмісту залишків пестицидів газохроматографічним методом".
9. Директива Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (notified under document number C(2002) 3044, text with EEA relevance, 2002/657/EC.
10. EN 15662:2008 "Foods of plant origin – Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS(/MS) following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE-QuEChERS-method".

*Національний університет біоресурсів і природокористування України
Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК*

Надійшло до редакції 20.07.2009