

Санкт-Петербургский государственный университет

*КАНАШИНА Дарья Леонидовна*

**Выпускная квалификационная работа**

**ГХ-МС определение пестицидов из сложных по составу объектов с предварительным микроэкстракционным концентрированием**

Уровень образования: *Магистратура*

Направление: *04.04.01 «Химия»*

Основная образовательная программа: *ВМ.5512.2018 «Химия»*

Научный руководитель: доцент,  
кафедра аналитической химии  
Института химии СПбГУ,  
кандидат химических наук,  
Тимофеева Ирина Игоревна

Рецензент: руководитель  
научной группы, ЦКП  
«Аналитическая  
Спектрометрия», кандидат  
химических наук,  
Ярошенко Дмитрий Вадимович

Санкт-Петербург  
2020

## Содержание

<b>Перечень условных обозначений</b> .....	4
<b>Введение</b> .....	6
<b>Глава 1. Обзор литературы</b> .....	8
1.1 Пестициды .....	8
1.2 Методы определения пестицидов в пищевых продуктах .....	14
1.3 Пробоподготовка при определении пестицидов в пищевых продуктах .....	19
1.4 Мицеллярная экстракция .....	24
<b>Заключение</b> .....	30
<b>Глава 2. Методика экспериментальных исследований</b> .....	31
2.1 Средства измерений и оборудование .....	31
2.2 Реактивы и материалы .....	32
2.3 Приготовление растворов .....	33
2.4 Пробоотбор и подготовка .....	34
<b>Глава 3. ГХ-МС определение пестицидов в огурцах и детском овощном питании с предварительным микроэкстракционным концентрированием</b> .....	35
3.1 Схема мицеллярной жидкостно-жидкостной микроэкстракции пестицидов .....	35
3.2 Выбор условий ГХ-МС определения пестицидов .....	36
3.3 Выбор оптимальных условий микроэкстракционного извлечения пестицидов .....	38
3.3.1 Изучение влияния состава экстракционной смеси .....	38
3.3.2 Изучение влияния объёма экстракционной смеси .....	41
3.3.3 Изучение влияния типа высаливающего агента .....	42
3.3.4 Изучение влияния массы высаливающего агента .....	43
3.3.5 Изучение влияния массы гомогенизированного образца .....	44
3.4 Исследование мицелло-обогащённой фазы .....	45
3.4.1 Исследование мицелло-обогащённой фазы методом динамического рассеяния света .....	45
3.4.2 Определение содержания 1-нониламина, пивалевой кислоты и воды в выделившейся мицелло-обогащённой фазе .....	47
3.4.3 Механизм предложенной схемы мицеллярной жидкостно-жидкостной микроэкстракции .....	49

3.5 Аналитические характеристики разработанной схемы.....	50
3.6 Испытание разработанной схемы анализа на реальных образцах .....	53
<b>Выводы</b> .....	<b>56</b>
<b>Благодарность</b> .....	<b>57</b>
<b>Список литературы</b> .....	<b>58</b>

## Перечень условных обозначений

ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием

ВЭЖХ-ДМД – высокоэффективная жидкостная хроматография с диодно-матричным детектированием

ВЭЖХ-УФ – высокоэффективная жидкостная хроматография с фотометрическим детектированием в ультрафиолетовой области

ВЭЖХ-ФЛ – высокоэффективная жидкостная хроматография с флуоресцентным детектированием

ГХ – газовая хроматография

ГХ-МС – газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием

ГХ-ПИД – газовая хроматография с пламенно-ионизационным детектированием

ГХ-ПФД – газовая хроматография с пламенно-фотометрическим детектированием

ГХ-ТИД – газовая хроматография с термоионным детектированием

ГХ-ЭЗД – газовая хроматография с электрозахватным детектированием

ГХЦГ –  $\gamma$ -изомер гексахлорциклогексана

ДАБ – 4-(додецилдиметил аммония) бутират

ДДТ – дихлордифенил трихлорметилметан

ДЖЖМЭ – дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция

ДСН – додецилсульфат натрия

ДТАБ – додецилтриметиламмония бромид

ДТФЭ – дисперсионная твёрдофазная экстракция

ЖЖМЭ – жидкостно-жидкостная микроэкстракция

ЖЖЭ – жидкостно-жидкостная экстракция

ЖФЭ – жидкофазная экстракция

ЖХ – жидкостная хроматография

ЖХ-МС – жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием

ЖХ-УФ – жидкостная хроматография с фотометрическим детектированием в ультрафиолетовой области

ИФА – иммуноферментный анализ

ККМ – критическая концентрация мицеллообразования

КЭ – капиллярный электрофорез  
КЭ-ЛИФ – капиллярный электрофорез с лазером индуцированным флуоресцентным детектированием  
КЭ-МС – капиллярный электрофорез с масс-спектрометрическим детектированием  
ЛД – летальная доза  
ЛДОК – линейный диапазон определяемых концентраций  
ММЭ – мицеллярная микроэкстракция  
МЭ – мицеллярная экстракция  
ПАВ – поверхностно-активное вещество  
ПДК – предельно допустимая концентрация  
ПО – предел обнаружения  
СФ-УВ – спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой области  
СКО – среднеквадратичное отклонение  
ТБАБ – тетрабутиламмония бромид  
ТФМЭ – твёрдофазная микроэкстракция  
ТФЭ – твёрдофазная экстракция  
УЗ – ультразвук  
ФОС – фосфорорганические соединения  
ЦТАБ – цетилтриметиламмония бромид  
PSA (Primary Secondary Amine) – первичный вторичный амин  
QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) – Быстрый, Простой, Дешевый, Эффективный, Точный и Надежный

## Введение

Современное сельское хозяйство практически невозможно представить без использования пестицидов. Данные соединения необходимы для борьбы с вредителями, контроля роста растений, что влияет на урожайность. Однако, эти токсиканты в количествах, превышающих установленные нормы, способны оказывать негативное влияние не только на окружающую среду, вызывая гибель целых экосистем, резистентность у вредителей, но и на здоровье человека. Наиболее частым способом попадания пестицидов в организм человека является их потребление с пищей. Последствиями такого воздействия являются различные аллергические реакции, нарушения нервной и репродуктивной функций систем, и даже развитие онкологических заболеваний [1]. В связи с этим, важной задачей аналитической химии является мониторинг пестицидов в пищевых продуктах.

Существует множество инструментальных методов определения пестицидов, наиболее распространёнными из которых являются газовая и жидкостная хроматография с различными системами детектирования. Из-за сложной матрицы пищевых продуктов и недостаточной чувствительности инструментальных методов, зачастую приходится вводить дополнительный этап анализа – пробоподготовку. Популярными являются процедуры пробоподготовки, основанные на жидкостной экстракции [2]. Существует множество вариаций данной методики подготовки пробы. На сегодняшний день к одним из наиболее перспективных методов жидкостной экстракции можно отнести мицеллярную жидкостную экстракцию, способ извлечения и концентрирования аналитов, основанный на использовании поверхностно-активных веществ. Главным преимуществом данного метода является его безопасность с точки зрения экологии по сравнению с большинством разработанных методик [3]. Однако, реализованные на данный момент способы подготовки проб пищевых продуктов, основанные на мицеллярной экстракции, требуют разбавления образующейся мицелло-обогащённой фазы или процедур рекстракции, потому как высокая вязкость этих фаз делает последующий хроматографический анализ невозможным. В результате этих манипуляций происходит снижение чувствительности методики и увеличение времени проведения анализа.

В связи с этим целью данной работы стала разработка простого экспрессного чувствительного и экологически безопасного метода пробоподготовки для определения пестицидов в сложных по составу объектах анализа, основанного на новом варианте мицеллярной микроэкстракции с использованием смешанного поверхностно-активного вещества и легко сочетающегося с газохроматографическим определением с масс-спектрометрическим детектированием.

Для реализации данной цели необходимо было решить следующие задачи:

- 1) предложить и обосновать новый вариант мицеллярной микроэкстракции пестицидов, основанный на использовании смешанного поверхностно-активного вещества;
- 2) установить оптимальные условия ГХ-МС определения выбранных пестицидов;
- 3) оптимизировать условия микроэкстракционного выделения и концентрирования целевых аналитов для их последующего ГХ-МС определения;
- 4) проиллюстрировать возможности разработанной методики на реальных образцах;
- 5) подтвердить правильность полученных результатов с помощью референтного метода.

## Глава 1. Обзор литературы

### 1.1 Пестициды

На сегодняшний день в связи с увеличивающимся темпом роста населения и, как следствие, необходимостью производить большее количество продуктов питания, современный мир практически невозможно представить без использования пестицидов [4]. Было установлено, что на данный момент около трети сельскохозяйственной продукции на планете производится с использованием данных веществ [5].

Согласно определению, предложенному Продовольственной и сельскохозяйственной Организацией Объединённых Наций [6], пестициды представляют собой вещество или смесь веществ химической или биологической природы, которые предназначены для отпугивания вредителей и их уничтожения, а также для регулирования роста растений.

Существует несколько вариантов классификации пестицидов. В зависимости от происхождения данные соединения можно группировать на биологические и химически синтезированные пестициды [7]. Биопестициды получают из природных материалов, например, таких как животные, растения, бактерии и некоторые минералы. Химически синтезированные токсиканты обладают более широким спектром действия, в то время как биопестициды воздействуют на целевых вредителей и близкородственных им организмов, кроме того, они эффективны против вредителей в небольших количествах из-за их специфично направленных свойств. В связи с этим, становится ясно, что биологические соединения являются менее вредными и более экологически безопасными для окружающей среды [8].

Наиболее популярной классификацией пестицидов является их систематизация по направленности действия. В таблице 1 представлены основные типы пестицидов, а также целевой вредитель, на ингибирование которого направлены данные соединения [9, 10].

По статистике наиболее распространёнными типами пестицидов являются гербициды (40%), инсектициды (18%) и фунгициды (10%) [11]. Классификация по направленности действия, как правило, условна, поскольку зачастую многие из пестицидов обладают универсальным поражающим действием. Например, карбофос

применяют в сельском хозяйстве как для борьбы с клещами, так и против паразитирующих насекомых [12].

**Таблица 1.** Классификация пестицидов по объектам применения

<b>Группа пестицидов</b>	<b>Целевой организм</b>
Акарициды	Клещи
Альгициды	Водоросли
Афициды	Тля
Бактерициды	Бактерии
Вирусциды	Вирусы
Гербициды	Сорняки
Инсектициды	Насекомые
Ларвициды	Личинки насекомых и клещей
Моллюскициды	Моллюски
Нематициды	Нематоды
Овициды	Яйца насекомых и клещей
Родентициды	Грызуны
Фунгициды	Грибки

В зависимости от наличия у пестицидов в структуре того или иного основного действующего функционального фрагмента наблюдаются различные механизмы действия этих веществ на целевой организм. Выделяют несколько основных групп данных ядохимикатов: фосфорорганические соединения (ФОС) [13], хлорорганические соединения [14], производные карбаминовой кислоты [15], синтетические пиретроиды [16], неоникотиноиды [17], триазолы [18] и другие [19]. Механизм действия и примеры пестицидов, относящихся к конкретной группе, представлены в таблице 2 [12].

**Таблица 2.** Основные группы пестицидов в зависимости от функционального фрагмента

<b>Группа пестицидов</b>	<b>Механизм действия</b>	<b>Примеры пестицидов</b>
Фосфорорганические соединения (ФОС)	ингибируют фермент ацетилхолинэстеразу, нарушая передачу нервного импульса	карбофос, диазинон, фозалон, фосфамид, метафос
Хлорорганические	взаимодействуют с мембранной	дихлордифенил

соединения	нервных клеток, препятствуя передаче нервного импульса, нарушая баланс ионов калия и натрия; обладают наиболее высокой токсичностью и медленной деградацией	трихлорметилметан (ДДТ), $\gamma$ -изомер гексахлорциклогексана (ГХЦГ), альдрин, полихлоркамфен, тиодан
Производные карбаминовой кислоты (карбаматы)	подавляют активность ацетилхолинэстеразы, но, в отличие от ФОС, обратимо; также более быстро метаболизируются, следовательно, период отравления меньше	карбосульфат, карбофуран, цинеб, фендифам, метомил
Синтетические пиретроиды	нарушают процесс обмена ионов натрия за счёт деполяризации мембраны нейронов, и как следствие, отрицательно воздействуют на передачу нервного импульса	циперметрин, бифентрин, сумицидин эсфенвалерат
Неоникотиноиды	ингибируют никотиновые ацетилхолиновые рецепторы, что приводит к параличу и летальному исходу	имидаклоприд, тиаклоприд, клотианидин
Триазолы	ингибируют биосинтез стерина, отвечающего за стабилизацию и функционирование клеточных мембран, в результате происходит нарушение клеточного деления	триадимефон, триадименол, флутриафол, фенбуконазол

Очевидно, что пестициды представляют повышенный интерес для сельского хозяйства, поскольку позволяют увеличивать урожай полезных культур, бороться с различными вредителями, контролировать рост растений [20]. Также, данные токсиканты играют важную роль в секторе здравоохранения. Так, например, наиболее действенной и широко применяемой мерой борьбы с насекомыми, переносящими

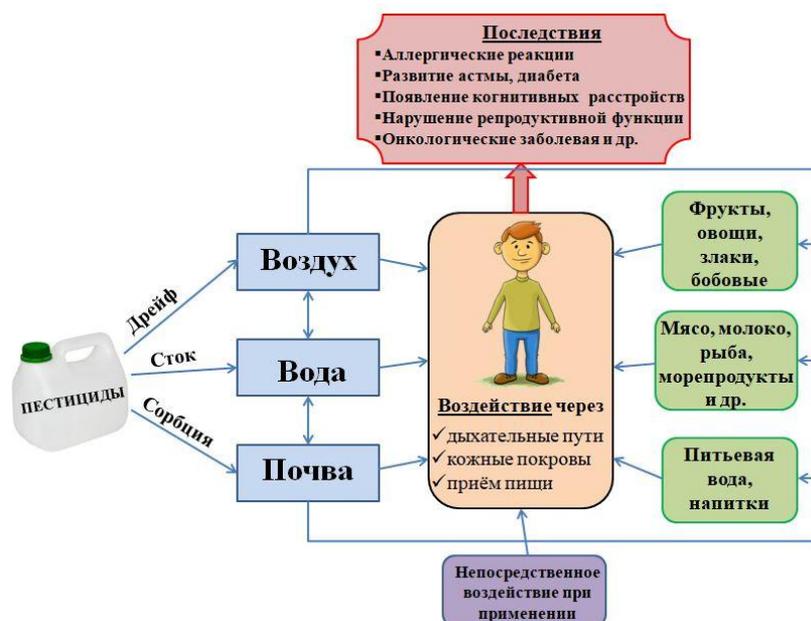
малярию, является применение инсектицидов, в основном в виде обработанных инсектицидами сеток и опрыскивания внутри помещений [21].

Однако несмотря на то, что при использовании пестицидов достигается значительная выгода, они способны оказывать негативное влияние на окружающую среду [22]. Причина этого заключается в том, что люди часто сознательно или по незнанию пренебрегают установленными законодательством нормами по применению токсикантов, помимо этого множество пестицидов обладают низкой биodeградацией, а большинство организмов отлично аккумулирует пестициды. Это приводит к концентрированию данных веществ, которое способствует увеличению их исходного содержания до 70000 раз [23]. В результате, пестициды в количествах даже меньших, чем предельно допустимые концентрации (ПДК), способны оказывать губительное влияние на целые экосистемы [24]. Повторное применение ядохимикатов снижает биоразнообразие экосистем, и вызывает резистентность у вредителей [25]. Было выяснено, что более 95 % применяемых пестицидов потенциально могут воздействовать на нецелевые организмы, широко распространяться в окружающей среде [26]. Воздушное загрязнение пестицидами осуществляется благодаря дрейфу пестицидов (например, после аэрозольного распыления) и улетучиванию после применения [27]. В водные объекты эти соединения попадают путём непосредственной обработки водоёмов с целью уничтожения вредителей, либо со сточными водами предприятий, а также с талыми или дождевыми водами при обработке сельскохозяйственных угодий [28]. В почву пестициды также способны поступать за счёт их прямого внесения для избавления от вредителей, обитающих в наземной среде, а также после воздействия на растения, или, например, с поливными водами [29].

Ещё одним важным следствием неправильного использования пестицидов является их отрицательное влияние на здоровье человека [30]. Эти соединения способны оказывать воздействие на человека непосредственно, например, в ходе обработки сельскохозяйственных культур, или косвенно, вместе с потребляемой пищей, водой. В связи с этим выделяют три основных способа попадания данных ядохимикатов в организм человека: оральный, респираторный и посредством контакта с кожными покровами [31]. Выяснено, что наиболее вероятное и сильное

отравление данными препаратами осуществляется за счёт перорального потребления пищевых продуктов и напитков, в которых содержатся пестициды [25].

Доказано, что воздействие пестицидов вызывает многочисленные нарушения здоровья. Основными из которых являются аллергические реакции [32], обострение или появление астмы [33], повышение риска развития диабета II типа и сопутствующих ему осложнений [34], появление когнитивных расстройств [35], нарушение деятельности репродуктивной системы [36]. Наиболее серьёзным последствием воздействия пестицидов на здоровье человека являются онкологические заболевания [37]. Преимущественно развитие раковых опухолей провоцируют такие группы пестицидов, как фосфорорганические, хлорорганические соединения, карбаматы и пиретроиды [38]. Так, например, было выяснено, что диазинон (ФОС, инсектицид) способен стимулировать образование онкологии яичников [39]. Другой инсектицид, относящийся к хлорорганическим пестицидам, дильдрин, является причиной возникновения новообразований в лёгких, печени, лимфоидной ткани, матке, щитовидной и молочной железе при концентрации всего 0,1 ppm [40]. Также, стоит отметить, что наиболее восприимчивыми к воздействию пестицидов на процессы жизнедеятельности организма являются дети (особенно в первый год после рождения), что связано с незрелостью их метаболических процессов, они менее способны к детоксикации химических веществ. Поэтому особенно важно следить за качеством продуктов питания, которые потребляют дети [41]. На рисунке 1 представлены основные пути воздействия пестицидов на человека и возможные последствия их влияния [10].



**Рисунок 1.** Схематическое представление воздействия пестицидов на человека и возможные последствия

Важным показателем использования каждого пестицида, который позволяет оценить степень его токсичности, является летальная доза (ЛД), то есть такое количество пестицида, которое вызывает летальный исход подопытного объекта. Различают ЛД<sub>50</sub> и ЛД<sub>100</sub> – средние летальные дозы вещества в миллиграммах на килограмм живой массы, вызывающей гибель 50% или 100% подопытных, соответственно. Чаще всего данный показатель оценивают по реакции лабораторных крыс на действие препаратов [42]. Всемирная организация здравоохранения разработала классификацию в зависимости от степени токсичности данных веществ, которая представлена в таблице 3 [43].

**Таблица 3.** Классификация пестицидов по токсичности, предложенная Всемирной организацией здравоохранения

Класс токсичности	Описание
IA	Чрезвычайно опасные
IB	Очень опасные
II	Умеренно опасные
III	Малоопасные

Степень токсичности пестицида не только определяет количество данного соединения, которое необходимо внести для воздействия на вредителя, также от этого зависит и актуальность его количественного определения в тех или иных средах. Как правило, предельно допустимые содержания ниже у пестицидов, принадлежащих к классам токсичности «чрезвычайно опасные» и «очень опасные». Известно, что вещества класса IА запрещено использовать в большинстве стран [12].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что пестициды при неправильном применении способны оказывать негативное влияние не только на природу, но и на здоровье человека. В связи с этим мониторинг их содержания в объектах окружающей среды, а также в продуктах питания является важной и актуальной задачей для химиков-аналитиков.

## **1.2 Методы определения пестицидов в пищевых продуктах**

На сегодняшний день существует множество методов определения пестицидов [21, 44]. Наиболее часто для этих целей применяют классические аналитические методы анализа такие, как газовая [45] и жидкостная хроматография [46] с различными системами детектирования, капиллярный электрофорез [47], иммуноферментный анализ [48]. Другой подход состоит в использовании методик, основанных на сенсорных принципах [49].

Хроматографические методы анализа основаны на разделении веществ, которое осуществляется за счёт многократного распределения компонентов между двумя несмешивающимися фазами при их относительном перемещении [50]. В зависимости от агрегатного состояния подвижной фазы принято выделять газовую (ГХ), жидкостную (ЖХ) и сверхкритическую флюидную хроматографию [51]. Выбор метода определяется прежде всего свойствами аналитов. Так, газовую хроматографию применяют преимущественно для неполярных, летучих и легко испаряющихся соединений [44]. Анализы пестицидов, проводимые ГХ, обычно сочетаются со специальными детекторами, такими как электрозахватный детектор (ЭЗД) [52-54], пламенно-фотометрический детектор (ПФД) [55, 56], пламенно-ионизационный детектор (ПИД) [57, 58] и термоионный детектор (ТИД) [59, 60]. Жидкостная хроматография используется в качестве метода разделения и

определения высокополярных, нелетучих или термолабильных пестицидов [44]. При проведении анализа пестицидов методом ЖХ нашли применение различные системы детектирования: фотометрическое детектирование в ультрафиолетовой области (УФ) [61], флуоресцентное детектирование (ФЛ) [62], а также диодно-матричный детектор (ДМД) [63, 64]. Отдельно хотелось бы отметить, что большая часть разработанных ГХ [65-69] и ЖХ [70-72] методик определения пестицидов включает масс-спектрометрическое детектирование (МС) [73]. Хроматографическая система осуществляет разделение анализируемой пробы на компоненты, после чего данные компоненты ионизируются, а изменение интенсивности ионного тока фиксируется специальным датчиком, на основании чего регистрируется хроматограмма и масс-спектр пробы одновременно. С помощью встроенного в каждый прибор программного обеспечения для обработки хроматограмм можно сверять полученную информацию с библиотекой данных, тем самым проводя качественное и количественное определение [74]. Хромато-масс-спектрометрия является высокочувствительным (позволяет достигать пределы обнаружения (ПО) на уровне  $ppb$  и ниже), селективным и крайне информативным методом определения веществ различных классов [75].

Капиллярный электрофорез (КЭ) – это метод внутрифазного разделения веществ, основанный на различной скорости миграции заряженных частиц внутри кварцевого капилляра под действием приложенного напряжения [76]. Данный метод хорош тем, что обеспечивает высокую эффективность разделения аналитов, требует небольших количеств реагентов и пробы, аппаратное обеспечение не такое дорогое, как в хроматографических методах анализа. Однако, КЭ обладает рядом существенных недостатков. Во-первых, он позволяет определять заряженные аналиты, что во многих случаях требует осуществления дополнительных процедур для перевода соединений в заряженное состояние. Во-вторых, КЭ обладает меньшей чувствительностью, чем хроматографические методы, что тоже вызывает трудности, и требует либо применения высокочувствительных систем детектирования (масс-спектрометрического детектирования (КЭ-МС) [77], лазером индуцированного флуоресцентного детектирования (КЭ-ЛИФ) [78]), либо включения приёмов концентрирования [79, 80].

Другим методом определения пестицидов в продуктах питания является иммуноферментный анализ (ИФА) [44]. В основе ИФА лежит взаимодействие специфических веществ (антител) с целевыми соединениями (антигенами). В результате, образуются комплексы антиген-антитело, которые детектируют различными методами с помощью легко считываемых меток (чаще всего ферментных) [81]. Так, авторы статьи [82] синтезировали гаптены 4-[[[(2,3-дигидро-2,2-диметил-7-бензофуранилокси)карбонил]амино]бутановой кислоты и 6-[[[(2,3-дигидро-2,2-диметил-7-бензофуранилокси)-карбониламино]гексановой кислоты, которые представляли собой антитела для определения карбаматов в образцах воды, почвы, салата и капусты. Иммуноферментный метод анализа является высокоспецифичным, чувствительным и быстрым методом анализа, однако он является менее распространённым по сравнению с хроматографическими и электрофоретическими методами анализа, что связано с дороговизной иммунохимических реагентов. Кроме того, ограничения его использования связаны с тем, что для каждого анализируемого образца необходимо подбирать определённые условия, то есть ИФА хорошо реализуется только для изученных систем [81].

В последнее время появилось множество работ, посвящённых определению пестицидов в продуктах питания и объектах окружающей среды, основанных на сенсорных принципах [21]. Выделяют электрохимические [83], оптические сенсорные системы [84], а также биосенсоры с молекулярными отпечатками [85]. Принцип работы сенсоров основан на взаимодействии аналита и рецептора, или полимера с молекулярно распознающими полостями, «отпечатанными» на шаблоне молекулы или реагента (в случае химических сенсоров), что приводит к различным процессам, которые с помощью специального элемента сенсорной системы преобразуются в сигнал, например, электрический или оптический, затем происходит считывание, обработка и представление на дисплее прибора [86]. Такие сенсорные системы отлично подходят для скрининга, они являются высокоселективными и в большинстве случаев достаточно чувствительными. Но несмотря на множество их достоинств, в большинстве случаев они не способны обеспечить мультиклассовый многокомпонентный анализ [87].

Наиболее распространённые методы определения пестицидов в пищевых продуктах, а также достигаемые пределы обнаружения приведены в таблице 4.

**Таблица 4.** Методы определения пестицидов в пищевых продуктах

<b>Метод определения</b>	<b>Аналиты</b>	<b>Предел обнаружения</b>	<b>Ссылка</b>
ГХ-ЭЗД	Хлорорганические пестициды	1,7 нг/л	[52]
ГХ-ЭЗД	Пиретроиды	0,1-0,5 нг/г	[53]
ГХ-ЭЗД	Хлорорганические пестициды и триазолы	0,003-0,04 мг/л	[54]
ГХ-ПФД	Фосфорорганические пестициды	0,02-0,61 мг/кг	[55]
ГХ-ПФД	Фосфорорганические пестициды	1,5-5,6 мкг/л	[56]
ГХ-ПИД	Фосфорорганические пестициды	0,82-2,72 нг/мл	[57]
ГХ-ПИД	Пестициды различных классов	0,34-5 мкг/л	[58]
ГХ-ТИД	Фосфорорганические пестициды	1,85-7,32 мкг/л	[59]
ГХ-ТИД	Триазолы	0,05-0,21 нг/г	[60]
ГХ-МС	Фосфорорганические пестициды	1,2-5,1 нг/л	[65]
ГХ-МС	Пестициды различных классов	0,5-1,0 нг/кг	[66]
ГХ-МС	Хлорорганические пестициды	1,4-15 нг/л	[67]

ГХ-МС	Фосфорорганические пестициды	0,4-1,7 мкг/кг	[68]
ГХ-МС	Пестициды различных классов	0,03-2,17 мкг/кг	[69]
ВЭЖХ-УФ	Фосфорорганические пестициды	1,85-7,34 мкг/кг	[61]
ВЭЖХ-ФЛ	Карбаматы	0,02-2,4 мкг/л	[62]
ВЭЖХ-ДМД	Акарициды	0,16-0,57 мкг/л	[63]
ВЭЖХ-ДМД	Фунгициды	0,5-1 мкг/кг	[64]
ВЭЖХ-МС	Фосфорорганические пестициды	$3 \cdot 10^{-4}$ - $3 \cdot 10^{-2}$ мг/л	[70]
ЖХ-МС	Пестициды различных классов	0,1-2,4 мкг/л	[71]
ЖХ-МС	Фосфорорганические пестициды	0,016-50,85 мкг/кг	[72]
КЭ-МС	Неоникотиноиды	1,0-2,3 мкг/л	[77]
КЭ-ЛИФ	Глифосат (ФОС)	0,04 нмоль/л	[78]
ИФА	Карбаматы	0,11 нг/мл	[82]
Амперометрический биосенсор	Карбарил	$2 \cdot 10^{-6}$ моль/л	[83]
Флуоресцентный оптический биосенсор	Фосфорорганические пестициды	2-5 мкг/л	[84]
Биосенсор на основе молекулярно-импринтированного полимера	Карбофуран	$2 \cdot 10^{-8}$ моль/л	[85]

Таким образом, можно сделать вывод, что хроматографические методы анализа являются наиболее распространёнными для задачи мониторинга содержания

пестицидов в пищевых продуктах. Это обусловлено тем, что они являются универсальными, многокомпонентными, высокоинформативными, достаточно экспрессными и легко автоматизируемыми [88]. Сочетание с масс-спектрометрическим детектированием позволяет достигать пределов обнаружения на уровне следовых количеств и ниже [75].

### 1.3 Пробоподготовка при определении пестицидов в пищевых продуктах

Одной из проблем при анализе продуктов питания и напитков на содержание в них пестицидов является наличие матричных компонентов пробы, способных оказывать различное мешающее влияние на определение целевых аналитов. В связи с этим, важным этапом анализа является пробоподготовка, которая позволяет не только нивелировать влияние компонентов матрицы образца, но и в большинстве случаев повысить чувствительность и селективность выбранного метода определения [89].

На данный момент существует огромное количество различных способов пробоподготовки, однако наиболее популярными являются различные виды жидкофазной [90-94] и твердофазной экстракций [95-97] процедура QuEChERS [98-101], а также разбавление раствора образца [102]. В таблице 5 представлены варианты методов пробоподготовки различных пищевых продуктов при определении в них пестицидов.

**Таблица 5.** Сравнительные характеристики способов определения пестицидов в пищевых продуктах

Пробоподготовка	Аналиты	Объект исследования	Метод детектирования	ПО	ЛДОК	Ссылка
ЖЖЭ	Хлорорганические пестициды	Плоды овощей и продукты их переработки	ГХ-ЭЗД	0,001-0,6 нг	до 0,001 мг/кг	[90]
ЖЖЭ	Фосфорорганические пестициды	Плоды овощей и продукты их переработки	ГХ-ТИД	2-5 нг	0,002-0,2 мг/кг	[91]
ДЖЖМЭ с использованием	Циперметрин и перметрин	Сок персика	ГХ-ПИД	2,2-3,1 мкг/кг	0,009-1,52	[92]

нием УЗ					мкг/г	
ДЖЖМЭ с перемешиванием на магнитной мешалке	Изокарбофос, паратион-метил, триазофос, фоксим, хлорпирифос	Вода	ВЭЖХ-УФ	0,012-0,38 мкг/л	1-500 мкг/л	[93]
ДЖЖМЭ с использованием диспергатора	Фосфорорганические пестициды	Сок боярышника	ГХ-ПФД	0,05-0,1 мкг/л	0,5-100 мкг/л	[94]
ТФЭ	Хлорорганические пестициды	Питьевая вода	ГХ-МС	0,39-0,70 нг/л	2-500 нг/л	[95]
ТФЭ	Диносеб, пиримикарб, процимидон, пирифенокс, приметанил, тиабендазол	Персики, нектарины	КЭ-МС	0,05-0,5 мкг/мл	1,5-150 мкг/мл	[96]
ТФМЭ	Хлорорганические пестициды	Питьевая вода	ГХ-МС	0,05-0,97 нг/л	1-500 нг/л	[97]
QuEChERS	Более 20 пестицидов различных классов	Фрукты, овощи	ГХ-МС	10-100 нг/г	-	[98]
QuEChERS	102 пестицида различных классов	Зелёный чай	ВЭЖХ-МС	0,03-15 мкг/кг	2-500 нг/мл	[99]
QuEChERS	133 пестицида различных классов	Ченпи (специи)	ГХ-МС	0,01-0,005 мг/кг	1-200 нг/мл	[100]
QuEChERS	8 пестицидов из классов ФОС и пиретроидов	Овощи	ГХ-МС	0,3-1,5 мкг/кг	5-500 нг/г	[101]
20-кратное разбавление с последующей экстракцией	20 пестицидов различных классов	Специи	ЖХ-МС	0,2-10 мкг/кг	0,001-0,1 мг/л	[102]

ацетонит- рилом						
--------------------	--	--	--	--	--	--

Экстракционные методы пробоподготовки основаны на различном распределении веществ между несмешивающимися фазами. Выделяют жидкофазную (ЖФЭ) и твёрдофазную экстракции (ТФЭ) [103].

В классическом варианте жидкостно-жидкостной экстракции (ЖЖЭ), как правило, происходит извлечение аналитов из водного раствора образца в различные органические растворители. Так, например, для извлечения хлорорганических пестицидов из овощей и продуктов их переработки согласно ГОСТ 30349-96 [90] используют этилацетат. Другой ГОСТ 30710-2001 [91] основан на определении фосфорорганических пестицидов в овощах с помощью экстракции ацетоном с последующей экстракцией в хлороформ. Главным недостатком классической ЖЖЭ является то, что для её реализации требуются большие объёмы токсичных органических растворителей, что вызывает не только трудности с их утилизацией, но и из-за низкого концентрирования аналитов снижаются предельные возможности метода [104]. Также она достаточно продолжительна по времени и трудозатратна [105]. Поэтому был разработан вариант микроэкстракции, отличие которого заключается в том, что в этом случае используют микроколичества экстрагента ( $\leq 100$  мкл) [106].

Существует множество вариаций жидкостно-жидкостной микроэкстракции (ЖЖМЭ). Одним из наиболее популярных вариантов можно назвать дисперсионную микроэкстракцию (ДЖЖМЭ), суть которой заключается в эффекте диспергирования экстрагента, который увеличивает площадь соприкосновения фаз, а это приводит к увеличению эффективности концентрирования [107]. Так, исследователями данной работы [93] было предложено определять ФОС посредством дисперсионной жидкостной экстракции, где в качестве экстрагента использовалась смесь 1-додеканола и гексана, а диспергирование осуществлялось посредством механического перемешивания с помощью магнитной мешалки. Им удалось достигнуть коэффициентов концентрирования, равных 180-232. Также диспергирование экстрагента может осуществляться за счёт использования ультразвука (УЗ) [92], введения дополнительного диспергирующего растворителя [94] и др.

Как уже было отмечено ранее, твёрдофазная экстракция также входит в число методов пробоподготовки для определения пестицидов в пищевых продуктах. ТФЭ предполагает адсорбцию аналитов на сорбентах с последующим элюированием [44]. Так, например, её возможности продемонстрированы в работе [95], где в качестве адсорбента используют магнитный пористый углеродный материал для определения хлорорганических соединений в пробах питьевой воды с последующим элюированием дихлорметаном и хромато-масс-спектрометрическим детектированием. В другом исследовании [96] были продемонстрированы возможности определения 6 пестицидов в нектаринах и персиках с помощью модифицированного октадецильными группами силикагеля ( $C_{18}$ ), после чего проводили элюирование дихлорметаном с последующей заменой растворителя для определения методом капиллярного электрофореза с масс-спектрометрическим детектированием.

Существуют и варианты твёрдофазной микроэкстракции (ТФМЭ). ТФМЭ объединяет отбор пробы и концентрирование, что делает её более экспрессной и легко автоматизируемой [88]. Преимущества такой модификации ТФЭ отлично продемонстрированы при определении хлорорганических пестицидов в питьевой воде. Авторы работы [97] синтезировали покрытие для порта ввода пробы в газовый хроматограф, состоящее из наночастиц, функционализированных амино-группами ( $NH_2$ -MIL-53(Al)). Десорбция пестицидов осуществлялась за счёт изменения температур. Это позволило определять аналиты с высокой чувствительностью (ПО составили 0,05-0,97 нг/л) за короткий промежуток времени. Несмотря на большое количество очевидных достоинств твёрдофазных вариантов экстракции, они обладают рядом недостатков: неудовлетворительная воспроизводимость результатов, что связано с эффектом «памяти» сорбента, в большинстве случаев короткое время эксплуатации и дороговизна сорбентов [108].

Методика QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe – Быстрый, Простой, Бюджетный, Эффективный, Точный и Надежный) нашла широкое применение при подготовке образцов продуктов питания перед анализом на предмет содержания в них пестицидов. В общем случае данная процедура включает два основных этапа: (1) жидкостную экстракцию органическим растворителем и (2)

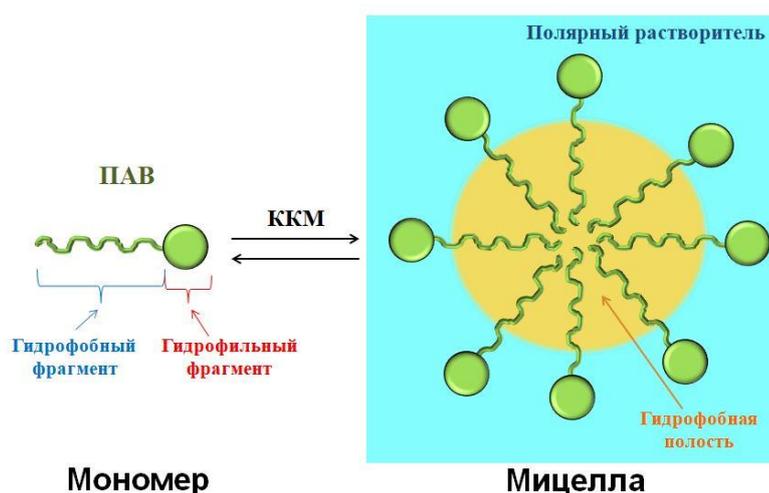
последующую очистку экстракта путём дисперсионной твёрдофазной экстракцией (ДТФЭ) [109]. Впервые эта процедура была предложена в 2003 году учёными из США [98]; в качестве экстрагента был использован ацетонитрил, разделение фаз осуществлялось за счёт добавления сульфата магния и хлорида натрия. Очистка экстракта проводилась с помощью сорбента, в качестве которого был предложен PSA (первичный вторичный амин), смешанный с сульфатом магния. Процедура ДТФЭ позволила эффективно удалить многие компоненты полярной матрицы, такие как органические кислоты, некоторые полярные пигменты и сахара за счёт PSA; а сульфат магния способствовал избавлению от воды в полярном растворителе. Последующее определение проводилось с помощью ГХ-МС. Исследователи утверждают, что один химик-аналитик может реализовать такую пробоподготовку для шести предварительно измельчённых образцов фруктов и овощей менее чем за 30 минут, а стоимость пробоподготовки одного такого образца составит 1 доллар США. В последующие годы было придумано множество вариаций метода QuEChERS, например, где в качестве сорбентов для ДТФЭ вместо PSA используют графитированную сажу для удаления стиролов и пигментов [99], а для избавления от неполярных мешающих веществ – модифицированный октадецильными группами силикагель ( $C_{18}$ ) [100] и др. Безусловно, главным преимуществом процедуры пробоподготовки, основанной на QuEChERS, является обеспечение мультиклассового многокомпонентного анализа. Также данный метод является достаточно недорогим и экспрессным, однако из-за того, что эта пробоподготовка осуществляется в минимум две стадии, это делает её не только трудозатратной, но зачастую наблюдаются потери аналитов, что может, сказываться на чувствительности методик [110].

Разбавление образца является самым простым способом подготовки пробы к анализу. Этот вариант пробоподготовки позволяет лишь снизить мешающее матричное влияние, но не избавиться от него. Кроме того, при разбавлении уменьшается не только негативное влияние матрицы образца, но и концентрация аналитов [109]. Поэтому данный способ не нашёл широкого применения в качестве подготовки пробы, как самостоятельный метод. В основном его применяют в сочетании с различными видами экстракции [102].

Ещё одним перспективным и относящимся к безопасным с экологической точки зрения методам подготовки образцов пищевых продуктов является мицеллярная экстракция (МЭ), которой посвящён отдельный пункт 1.4.

## 1.4 Мицеллярная экстракция

В основе метода мицеллярной экстракции лежит использование поверхностно-активных веществ (ПАВ), которые представляют собой амфифильные молекулы с чётко выраженными гидрофобными и гидрофильными фрагментами [111]. Как правило, полярная или ионная группа связана с длинным углеводородным хвостом, который может быть линейным, разветвлённым или содержащим, например, ароматические кольца. При низких концентрациях в водных растворах данные вещества присутствуют по большей части в виде мономеров, однако могут быть обнаружены димеры и тримеры. Если концентрация ПАВ в растворе становится выше определённого значения, называемого критической концентрацией мицеллообразования (ККМ), молекулы такого соединения способны образовывать агрегаты, которые называют мицеллами. В зависимости от природы поверхностно-активных веществ и окружающих условий мицеллы способны принимать различные формы [112]. Схематическое образование мицелл из мономеров в полярном растворителе представлено на рисунке 2.



**Рисунок 2.** Схематическое представление ПАВ и образование мицелл из мономеров

Химическая классификация поверхностно-активных веществ основана на природе гидрофильной группы. Выделяют четыре основных класса поверхностно-активных веществ: неионогенные, катионные, анионные и амфотерные (цвиттер-

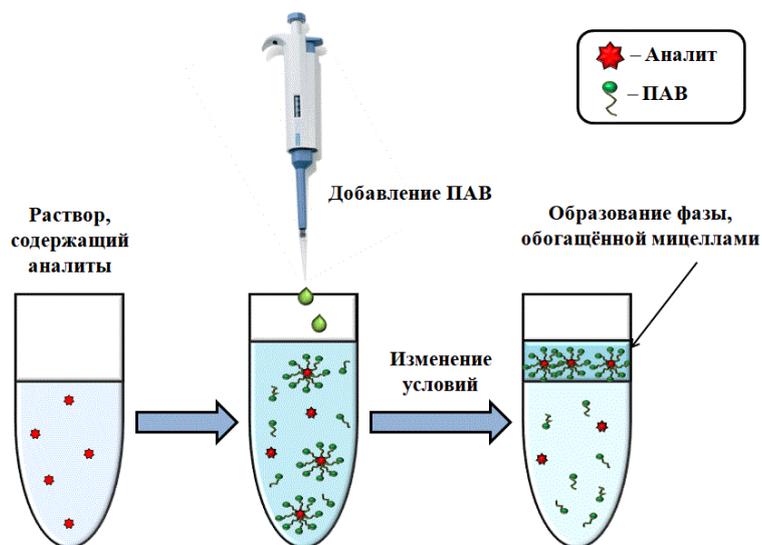
ионные). В таблице 6 продемонстрирована классификация, характеристика и примеры ПАВ [3].

**Таблица 6.** Классификация, характеристика и примеры ПАВ

Классификация	Характеристика	Пример ПАВ
Анионные	Гидрофильная группа несёт отрицательный заряд. Например, гидрофильные группы, такие как карбоксильная ( $\text{RCOO}^-$ ), сульфонатная ( $\text{RSO}_2\text{O}^-$ ), сульфо-группа ( $\text{ROSO}_3^-$ )	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4^- \text{Na}^+$ Додецилсульфат натрия (ДСН)
Катионные	Гидрофильная группа несёт положительный заряд. Например, соли четвертичных аммониевых оснований ( $\text{R}_4\text{N}^+\text{Cl}^-$ )	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Br}^-$ Цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ)
Амфотерные	Содержат как анионные, так и катионные группы, и в зависимости от рН среды по-разному ионизируются	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{N}^+(\text{CH}_3)_2(\text{CH}_3)\text{COO}^-$ 4-(Додецилдиметил аммония) бутират (ДАБ)
Неионогенные	Гидрофильная группа не имеет заряда, но ее растворимость в воде определяется из высокополярных групп, например, таких как полиоксиэтилен ( $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ )	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_{10}$ Тритон X-100

Процедура мицеллярной экстракции заключается в добавлении поверхностно-активного вещества при концентрации выше ККМ к раствору, содержащему аналиты, в результате происходит извлечение анализируемых соединений, образуется гомогенный мицеллярный раствор. На втором этапе за счёт изменения условий (температуры, давления, рН среды или добавления дополнительного вещества) выделяется фаза, обогащённая мицеллами, с выделенными в неё аналитами. Схема мицеллярной экстракции извлечения аналитов из полярных растворителей продемонстрирована на рисунке 3 [113]. Такой способ пробоподготовки имеет множество достоинств, включая низкую стоимость, экологическую безопасность, экспрессность. МЭ – это простая процедура подготовки пробы, способная извлекать

широкий спектр аналитов различной природы, демонстрируя высокие степени извлечения и коэффициенты концентрирования [3, 114].



**Рисунок 3.** Схема мицеллярной экстракции

Мицеллярная экстракция была успешно реализована для определения пестицидов в пищевых продуктах, объектах окружающей среды, биологических образцах. В качестве ПАВ были применены неионогенные [115-117], анионные [118], катионные [119] и смешанные поверхностно-активные соединения [120-121]. Для мицеллярного типа экстракции, также как и для других видов процедур извлечения и концентрирования, наблюдается тенденция к использованию микроколичеств ПАВ в качестве экстрагентов, что позволяет сократить не только расход реагентов, но и уменьшить количество утилизируемых отходов, остающихся после анализа. В связи с этим используют термин «мицеллярная микроэкстракция» (ММЭ) [122].

Основными инструментальными методами определения, сочетающимися с МЭ, являются спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой области (СФ-УВ), жидкостная хроматография с УФ-детектированием, а также газовая хроматография с пламенным фотометрическим детектированием, что объясняется свойствами образующейся мицелло-обогащенной фазы. В таблице 7 продемонстрированы различные варианты пробоподготовки разных объектов анализа для определения в них пестицидов, основанные на МЭ.

**Таблица 7.** Сравнение методов пробоподготовки, основанных на мицеллярной экстракции, для определения пестицидов

ПАВ	Объём/ масса экстрагента	Предварительная подготовка мицелло- обогащённой фазы	Объект иссле- дования	Объём/ масса образца	Аналиты	Метод детектирова- ния	ПО	ДОК	Время пробо- подготов- ки, мин	Ссыл- ка
Полиэтиленгликоль 6000	3 мл	Обратная экстракция с помощью УЗ этилацетатом (20 мин); центрифугирование (2 мин)	Фрукто- вые соки	2 г	Фосфорорга- нические пестициды	ГХ-ПФД	0,5-3 мкг/кг	4,0- 200 мкг/кг	27	[115]
ЦТАБ	2 мл	Разбавление водой	Вода	7 мл	Диазинон	СФ-УВ	0,02 мкг/л	0,02- 24 мкг/л	35	[119]
Тритон X-114	140 мкл	Обратная экстракция изооктаном с помощью микроволнового излучения (2 мин); центрифугирование (1 мин)	Моча	9 мл	Фосфорорга- нические пестициды	ГХ-ПФД	0,04- 0,08 мкг/л	0,1-20 мкг/л	29	[126]
Тритон X-100	0,6 г	Разбавление метанолом; центрифугирование (5 мин)	Молоко	10 мл	Триазолы	ВЭЖХ-УФ	6,79- 11,19 мкг/л	50- 2000 мкг/л	45	[123]
Полиоксиэтилен 10 лауриловый эфир	0,3 мл	Разбавление смесью метанол : вода (1:1, об./об.)	Вода	10 мл	Фосфорорга- нические пестициды	ЖХ-УФ	0,88- 28,45 мкг/л	50- 3000 мкг/л	20	[116]

Тритон X-114	5 мг	Осаждение смесью метанол : вода (9:1, об./об.); центрифугирование (5 мин)	Вода, почва	0,5 мл/ 2 г	Прометрин	ВЭЖХ-УФ	3,5 мкг/л (вода), 4,0 мкг/кг (почв)	-	40	[117]
ДСН	0,3 г	Разбавление деионизованной водой	Овощи	10 г	Карбарил	СФ-УВ	50 мкг/л	0,04- 2,18 г/кг	7	[118]
Тритон X-100	1,5 мл	Разбавление смесью метанол : вода (3:1, об./об.)	Овощи	2 г	Трихлорфон	ВЭЖХ-УФ	2,0 мкг/л	0,01- 0,2 мг/л	60	[124]
Полиэтиленгликоль 600	4 мл	Разбавление метанолом	Вода	20 мл	Триазолы	ВЭЖХ-УФ	6,8- 34,5 нг/л	0,05- 20 мкг/л	15	[125]
ДСН и додецилтриметиламмония бромид (ДТАБ)	0,046 г	Разбавление метанолом	Фрукты	10 г	Фосфорорганические пестициды	ВЭЖХ-УФ	3,0-10 мкг/кг	0,01-7 мг/л	20	[120]
ДСН и тетрабутиламмония бромид (ТБАБ)	0,233 г	Разбавление деионизованной водой	Фруктовые соки, вода	5 мл	Фосфорорганические пестициды	ВЭЖХ-УФ	1-30 мкг/л	0,05-5 мкг/мл	15	[121]

Анализ данных, представленных в таблице, позволяет сделать вывод о том, что использование метода МЭ на стадии пробоподготовки способствует достижению низких пределов обнаружения, однако большинство работ посвящено анализу жидкофазных объектов. Стоит отметить, что ПАВ имеют одно серьёзное ограничение – повышенную вязкость образующейся мицелло-обогащённой фазы. Данное свойство препятствует непосредственному введению такой фазы в аналитический прибор. Поэтому практически каждая методика включает дополнительный этап подготовки этой фазы: разбавление [120, 121, 123-125], осаждение [117] или реэкстракцию [115, 126], что значительно удлиняет процедуру анализа.

Таким образом, на сегодняшний день существует множество разнообразных методов пробоподготовки пищевых продуктов с целью определения пестицидов, большинство из которых основано на экстракции [127]. Однако несмотря на это разнообразие, до сих пор существует необходимость создания простых, дешёвых, быстрых, чувствительных и экологически безопасных методов определения этих токсикантов в пищевых продуктах.

## Заключение

Пестициды нашли широкое применение в сельском хозяйстве, поскольку они позволяют увеличивать урожайность полезных растительных культур и контролировать влияние вредителей. Несмотря на это, мониторинг данных соединений в пищевых продуктах необходим, так как они способны отрицательно воздействовать на здоровье человека.

На сегодняшний момент разработано большое количество методик определения пестицидов в продуктах питания и напитках. Наиболее распространёнными инструментальными методами являются жидкостная и газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием, что обусловлено их высокой чувствительностью и информативностью. Среди методов пробоподготовки пищевых продуктов широкое применение нашли экстракционные методы, позволяющие не только устранять мешающее влияние матрицы пробы, но и осуществлять концентрирование аналитов, тем самым обеспечивая их детектирование на уровне ПДК и ниже.

Многообещающим методом пробоподготовки является мицеллярная экстракция, в основе которой лежит использование различных ПАВ. Её главными преимуществами является экологическая безопасность по сравнению с разработанными процедурами пробоподготовки, основанными на классических вариантах экстракции, а также простота и доступность. Однако, из-за вязкости образующейся фазы, обогащённой мицеллами, такие варианты пробоподготовки трудно сочетаются с инструментальными методами определения. В связи с чем, требуется дополнительная подготовка выделенной фазы перед её анализом на приборе.

Поэтому разработка чувствительных простых экспрессных процедур пробоподготовки, легко сочетающихся с инструментальными методами определения пестицидов, и удовлетворяющих принципам «зеленой» аналитической химии, является актуальной задачей для аналитической химии и по сей день.

## Глава 2. Методика экспериментальных исследований

### 2.1 Средства измерений и оборудование

1. ГХ-МС анализ проводился с помощью газового хроматографа «GCMS-QP2010 SE» (Shimadzu, Япония) с масс-спектрометрическим детектированием. Разделение осуществлялось на капиллярной колонке «Optima 1» (25 м × 0,32 мм × 0,35 мкм; Macherey-Nagel, Германия). В качестве газа-носителя использовался гелий (99,999 %) при постоянной скорости 1 мл/мин. Температура ввода пробы составляла 200 °С. Температурный режим разделения изменялся от 150 °С (в течение 1 минуты) до 280 °С при скорости 15 °С/мин в течение 7 минут. Способом ионизации в масс-спектрометре являлся электронный удар. Энергия ионизации электронным ударом составляла 70 эВ, температура источника, а также квадрупольного масс-анализатора равнялась 250 °С. Качественное определение аналитов проводилось в режиме мониторинга выбранных ионов (SIM – selective ion monitoring), при этом количественное определение было основано на определении площади пика каждого пестицида по наиболее специфичному отношению массы иона к его заряду (m/z): диазинон – 137, триадимефон-208, триадименол-112, бифентрин-181.

2. ГХ-ПИД анализ в референтном методе проводился на газовом хроматографе «Кристалл 5000» (Хроматек, Россия) с пламенно-ионизационным детектированием. Разделение осуществлялось на капиллярной колонке «ВРХ-1» (10 м × 0,53 мм × 2,65 мкм; SGE Analytical Science, Австралия). Гелий (99,999%) использовался в качестве газа-носителя с постоянной линейной скоростью 30 см/с. Температурный режим разделения был запрограммирован следующим образом: 100 °С в течение двух минут, далее происходило увеличение температуры со 100 °С до 290 °С со скоростью 15 °С/мин, и температура удерживалась в течение 6 минут при 290 °С. Температура инжектора и детектора составляла 250 °С. Газообразный водород генерировали с помощью генератора водорода «OPGU-1500S» (Shimadzu, Япония) при скорости потока 40 мл мин<sup>-1</sup>. Скорость потока воздуха для детектора составляла 300 мл / мин.

3. Электронные весы «Ohaus Pioneer PA214C» (Китай), 2-ой класс точности, предел взвешивания 210 г, погрешность 0,1 мг.

4. Лабораторная центрифуга «ОПн – 8» (Дастан, Киргизская Республика), максимальная рабочая частота вращения 8000 об/мин, максимальный фактор разделения 6600.

5. Исследования мицелло-обогащённой фазы и водной фазы, подтверждающие образование мицеллярных структур, осуществлялись методом динамического рассеяния света с помощью установки «PhotoCor Complex» (Фотокор, Россия), погрешность измерения составляла  $\pm 1\%$ ; рассеяние исследовалось в диапазоне углов от  $40^\circ$  до  $100^\circ$ , погрешность  $0,01^\circ$ , при температуре  $20,0 \pm 0,1$  °С; источник излучения – термостабилизированный диодный лазер мощностью 25 мВт, с длиной волны 445 нм.

6. ГХ-ПИД анализ выделившейся мицелло-обогащённой фазы проводился на газовом хроматографе «Кристалл 5000» (Хроматек, Россия). Разделение осуществлялось на капиллярной колонке «Optima 1» ( $25 \text{ м} \times 0,32 \text{ мм} \times 0,35 \text{ мкм}$ ; Macherey-Nagel, Германия). Условия определения 1-нониламина были следующие: термостатирование колонки осуществлялось при  $100$  °С; инжестируемый объём пробы составил  $0,5$  мкл; скорость потока газа-носителя – азота равнялась  $2,2$  мл/мин, а температура инжектора была установлена на  $250$  °С. Условия определения пивалевой кислоты отличались: температурный режим изменялся от  $65$  °С (в течение 2 минут) до  $225$  °С при скорости  $20$  °С/мин; инжестируемый объём пробы был равен  $1$  мкл; скорость потока гелия составила  $2,2$  мл/мин.

7. Содержание воды в мицелло-обогащённой фазе измерялось методом Карла Фишера на кулонометре «831 KF Coulometer» (Metrohm, Швейцария), точность  $\pm 0,3$  %.

## 2.2 Реактивы и материалы

При выполнении экспериментальной части работы были использованы следующие реактивы:

1. Диазинон, х.ч.;
2. Триадимефон, х.ч.;
3. Триадименол, х.ч.;
4. Бифентрин, ч.д.а.;
5. Метанол, о.с.ч. (Sigma-Aldrich);

6. 1-бутиламин, х.ч.;
7. 1-пентиламин, х.ч.;
8. 1-гексиламин, х.ч.;
9. 1-гептиламин, х.ч.;
10. 1-октииламин, х.ч.;
11. 1-нониламин, х.ч.;
12. 1-дециламин, х.ч.;
13. Пивалевая кислота, ч.д.а.;
14. Гексановая кислота, ч.д.а.;
15. Октановая кислота, ч.д.а.;
16. Нонановая кислота, ч.д.а.;
17. Ацетат аммония х.ч.; ГОСТ 3117-78;
18. Гидрофосфат натрия, х.ч., ГОСТ 4172-76;
19. Сульфат аммония, ч.д.а., ГОСТ 3769-78;
20. Карбонат натрия, ч.д.а., ГОСТ 83-79;
21. Хлорид натрия, х.ч., ГОСТ 4233-77;
22. Глюкоза, х.ч., ГОСТ 975-88;
23. Ацетонитрил, о.с.ч. (Sigma-Aldrich);
24. Толуол, ч.д.а., ГОСТ 5789-78;
25. Тритон X-100, ч.д.а.

### 2.3 Приготовление растворов

#### *Приготовление 1 г/л растворов пестицидов*

В химический стакан помещали 0,01 г каждого пестицида и растворяли в 2 мл метанола. После полного растворения навески пестицида, раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл, стакан промывали тремя порциями метанола по 2 мл, доводили объём раствора в колбе до метки метанолом и тщательно перемешивали. Исходные растворы хранили в холодильнике при температуре 4 °С. Рабочие растворы готовили ежедневно путём последовательного разбавления исходных растворов дистиллированной водой.

#### *Приготовление 100 мкг/л раствора смеси пестицидов*

В мерную колбу объемом 10 мл помещали по 1 мл каждого из исходных растворов пестицидов с концентрацией 1 г/л, доводили объем раствора до метки деионизованной водой и тщательно перемешивали. В результате, получался раствор смеси пестицидов с концентрацией 100 мг/л, из которого в дальнейшем готовили раствор с концентрацией 100 мкг/л: в мерную колбу объемом 50 мл помещали 50 мкл раствора смеси пестицидов с концентрацией 100 мг/л, доводили объем раствора до метки деионизованной водой и тщательно перемешивали.

#### *Приготовление 20% (масс.) растворов высаливающих/высахаривающих агентов*

На аналитических весах отмерялась навеска соответствующего высаливающего агента (хлорид натрия, сульфат аммония, гидрофосфат натрия, ацетат аммония, карбонат калия) или высахаривающего агента (глюкоза), равная 2 г, а затем растворялась в 8 мл воды, тщательно перемешивалась.

### **2.4 Пробоотбор и подготовка**

Огурцы и детское овощное питание из брокколи были приобретены в местном супермаркете. Огурцы принадлежали двум разным сортам: колючим короткоплодным и длинным гладким. Предварительная пробоподготовка перед анализом представляла собой гомогенизацию образцов огурцов в лабораторном измельчителе до пюреобразного состояния. Детское питание в гомогенизации не нуждалось, поскольку оно само по себе представляло пюре.

Каждый реальный образец с добавкой пестицидов готовился следующим образом: 10 мкл водного раствора смеси пестицидов с соответствующими концентрациями вводили в 800 мг гомогенизированного образца, а затем тщательно перемешивали.

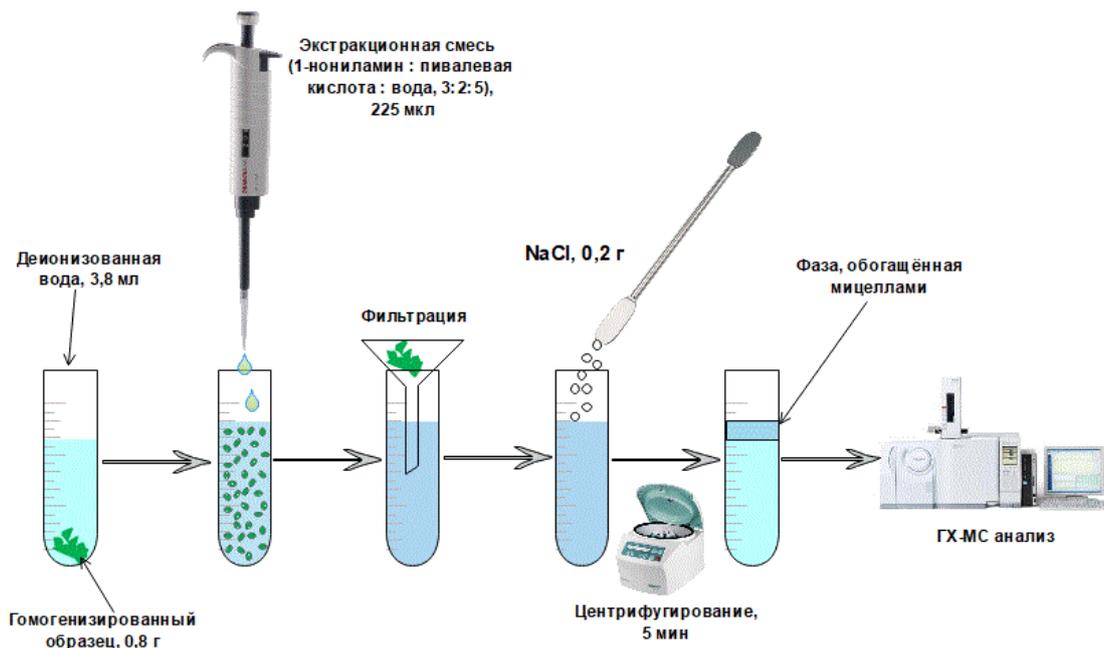
### **Глава 3. ГХ-МС определение пестицидов в огурцах и детском овощном питании с предварительным микроэкстракционным концентрированием**

#### **3.1 Схема мицеллярной жидкостно-жидкостной микроэкстракции пестицидов**

Как было показано в литературном обзоре в пункте 1.4, мицеллярная микроэкстракция является перспективным методом пробоподготовки пищевых продуктов для определения в них тех или иных аналитов, в том числе пестицидов. Однако большинство разработанных методов ограничены тем, что образующаяся фаза, обогащенная мицеллами, является чрезвычайно вязкой, что не только ограничивает возможность совмещения данной методики пробоподготовки с высокочувствительными инструментальными методами, такими, например, как ГХ-МС или ВЭЖХ-МС, но и значительно увеличивает время анализа и трудозатраты в ходе подготовки образцов. С целью устранения указанных недостатков мицеллярной экстракции, в данной работе был предложен новый метод пробоподготовки сложных по составу объектов анализа растительного происхождения, основанный на мицеллярной микроэкстракции, где в качестве поверхностно-активного вещества использовали смесь первичного амина и карбоновой кислоты со средней длиной углеродной цепи. Ранее в работе [128] уже была показана возможность использования 1-октиламина в качестве ПАВ-экстрагента для извлечения антибиотика (тетрациклина) из биологических жидкостей. Разработанная методика показала достойные аналитические характеристики, оказалась экспрессной и экологически безопасной.

На рисунке 4 представлена разработанная схема анализа овощей методом мицеллярной микроэкстракции с последующим ГХ-МС определением. Согласно предложенной схеме, на первом этапе в систему, содержащую гомогенизированный образец, с помощью дозатора вводят экстракционную смесь, состоящую из 1-нониламина, пивалевой кислоты и деионизованной воды (3:2:5), тщательно перемешивают путём встряхивания, а затем полученную смесь фильтруют через фильтр «синяя лента» для удаления твердых частиц образца. На втором этапе к фильтрату добавляют навеску высаливающего агента (хлорида натрия), тщательно перемешивают встряхиванием и центрифугируют в течение 5 минут при скорости 5000 об/мин. На заключительном этапе, выделившуюся фазу, обогащённую

мицеллами, и содержащую целевые аналиты, анализируют при помощи газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.



**Рисунок 4.** Схема мицеллярной жидкостно-жидкостной микроэкстракции для определения пестицидов в огурцах и овощном детском питании

### 3.2 Выбор условий ГХ-МС определения пестицидов

Для количественного определения пестицидов был выбран метод ГХ-МС, поскольку он является весьма чувствительным и информативным, а также достаточно экспрессным. Поэтому важным этапом работы оказался выбор условий ГХ-МС анализа.

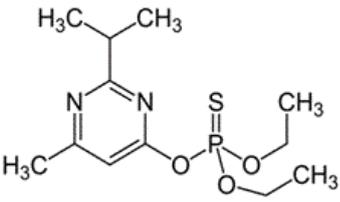
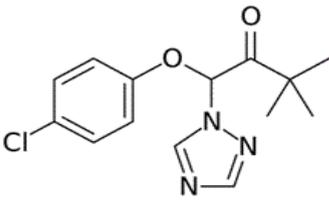
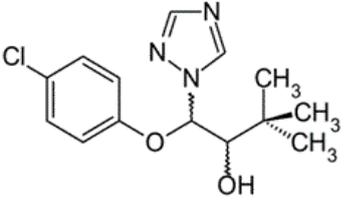
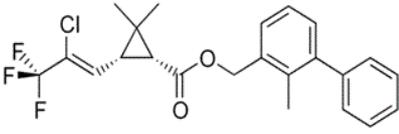
Разделение осуществлялось на капиллярной колонке из 100 % диметилполисилоксана. Гелий при постоянной скорости потока, равной 1 мл/мин, использовался в качестве газа-носителя. Температурный режим был построен на основании литературных данных [129]: изменения происходили со скоростью 15 °С/мин от 150 °С (в течении 1 минуты) до 280 °С (в течение 7 минут). Инжектирование осуществлялось при температуре 200 °С. Суммарное время анализа составило 12 минут, а инжектируемый объём пробы был равен 1 мкл.

Способом ионизации в масс-спектрометре являлся электронный удар. Энергия ионизации составила 70 эВ, а температура ионного источника и квадрупольного масс-анализатора равнялась 250 °С. Поскольку в системе присутствовал сильный

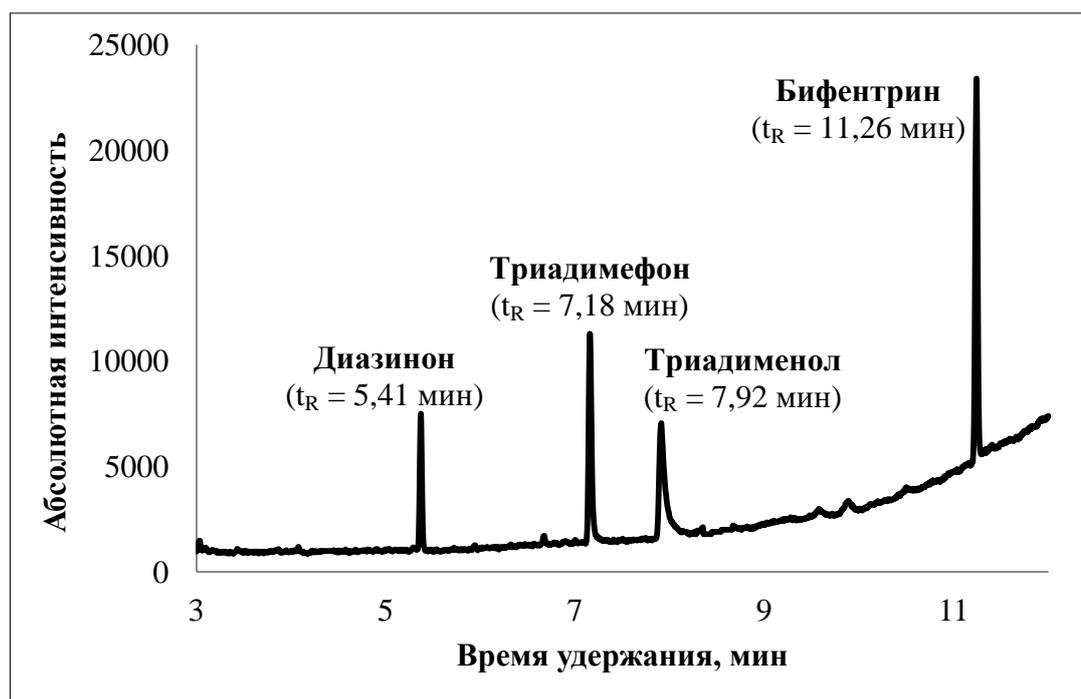
электролит (хлорид натрия), который давал мощный сигнал, оказывающий влияние на масс-анализатор, было принято решение осуществлять запись хроматограммы с пятой минуты во избежание помех.

Качественное определение было реализовано в режиме мониторинга выбранных ионов (SIM) для каждого пестицида. Выбор характеристичных отношений массы иона и к его заряду ( $m/z$ ) осуществлялся на основании данных электронной базы Национального Института Стандартов и Технологии (NIST). Количественный анализ осуществлялся на основании определения площадей пиков по наиболее специфичному отношению  $m/z$  (диазинон – 137, триадимефон-208, триадименол-112, бифентрин-181). Времена удержания и характеристичные  $m/z$  для каждого аналита представлены в таблице 8.

**Таблица 8.** Аналиты, их времена удерживания и характеристичные ионы

Пестицид	Структурная формула	Время удержания ( $t_R$ ), мин	$m/z$
Диазинон		5,41	<u>137</u>
			179
			152
Триадимефон		7,18	<u>208</u>
			57
			41
Триадименол		7,92	<u>112</u>
			168
			128
Бифентрин		11,26	<u>181</u>
			165
			182

Хроматограмма стандартного раствора смеси пестицидов с концентрацией 1 мг/л по полному ионному току продемонстрирована на рисунке 5.



**Рисунок 5.** Хроматограмма стандартного раствора смеси пестицидов с концентрациями 1 мг/л по полному ионному току

### 3.3 Выбор оптимальных условий микроэкстракционного извлечения пестицидов

Для обеспечения наиболее эффективного извлечения и концентрирования аналитов с помощью разработанного метода пробоподготовки, факторы, которые способны оказывать на это влияние, были изучены и оптимизированы. К ним можно отнести состав и объём экстракционной смеси, тип и концентрацию высаливающего агента, а также массу гомогенизированного образца. Оптимизация условий осуществлялась методом варьирования параметров.

#### 3.3.1 Изучение влияния состава экстракционной смеси

Как было отмечено ранее, в качестве потенциальных предшественников смешанных поверхностно-активных систем были изучены первичные амины в гомологическом ряду от 1-бутиламина до 1-дециламина, и карбоновые кислоты со средней длиной углеродной цепи: пивалевая, гексановая, октановая, и нонановая кислоты. Помимо этого, были исследованы смеси данных соединений в различных

соотношениях в диапазоне от 1:4 до 4:1 (об./об.). Эксперимент проводился следующим образом: 1 мл водного раствора пестицидов с концентрацией 100 мкг/л смешивали с 50 мкл первичного амина, карбоновой кислоты или экстракционной смеси, содержащей первичный амин и карбоновую кислоту, в различных соотношениях; затем добавляли 200 мкл насыщенного водного раствора хлорида натрия, тщательно перемешивали в течение 3 минут, а потом 5 минут центрифугировали со скоростью 5000 об/мин.

Было установлено, что гомогенные растворы образуются для всех аминов и систем смешанных поверхностно-активных веществ на основе первичных аминов и карбоновых кислот в соотношениях, указанных в таблице 9. Пивалевая, гексановая, октановая и нонановая кислоты образовывали гидрофильные эмульсии, что можно объяснить низкой растворимостью кислот в водной фазе.

**Таблица 9.** Объёмный состав смешанных поверхностно-активных систем, формирующие гомогенные растворы

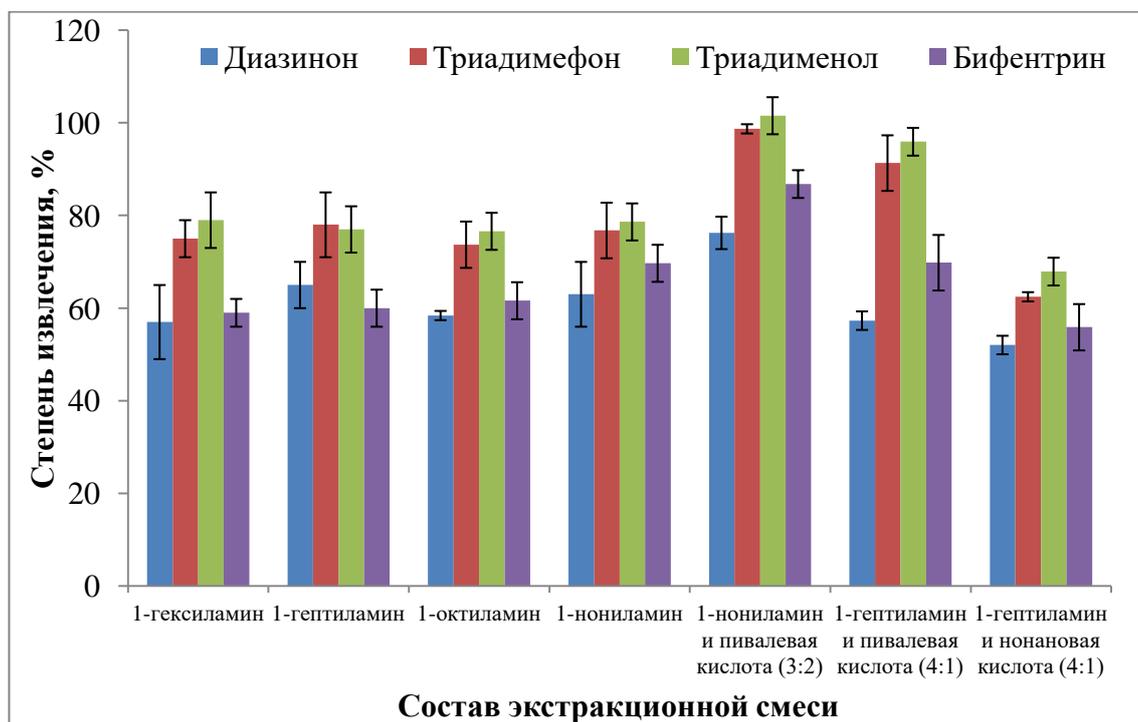
Первичный амин	Карбоновая кислота			
	Пивалевая кислота	Гексановая кислота	Октановая кислота	Нонановая кислота
1-бутиламин	1:4; 2:3; 3:2; 4:1	2:3; 3:2; 4:1	2:3, 3:2, 4:1	2:3, 3:2, 4:1
1-пентиламин	1:4; 2:3; 3:2; 4:1	3:2, 4:1	2:3, 3:2, 4:1	2:3, 3:2, 4:1
1-гексиламин	1:4; 2:3; 3:2; 4:1	-	2:3, 3:2, 4:1	3:2, 4:1
1-гептиламин	1:4; 2:3; 3:2; 4:1	3:2	-	4:1
1-октиламин	2:3; 3:2; 4:1	3:2, 4:1	-	-
1-нониламмин	3:2; 4:1	3:2, 4:1	-	-
1-дециламин	3:2	3:2, 4:1	-	-

Тем не менее после добавления высаливающего агента образование мицелло-обогащённой фазы и разделение фаз происходило только для нескольких смешанных поверхностно-активных систем: 1-гептиламин и пивалевая кислота (4:1, об./об.), 1-нониламмин и пивалевая кислота (3:2, об./об.), 1-гептиламин и нонановая кислота (4:1, об./об.). В случае систем на основе 1-октиламина/ 1-нониламина и октановой/ нонановой кислоты в соотношениях 2:3, 3:2, 4:1 (об./об.); 1-дециламина и гексановой/ октановой/ нонановой кислоты в соотношениях 2:3, 3:2, 4:1 (об./об.); также 1-

гептиламина и октановой/нонановой кислоты (3:2, об./об.) наблюдалось образование твёрдой фазы, поэтому, в дальнейшем данные системы не были изучены.

Очевидно, что гидрофобность соединений в таких системах смешанных поверхностно-активных веществ играет ключевую роль в разделении фаз: более гидрофильные вещества обеспечивают разделение фаз. Первичные амины, такие как 1-гексиламин, 1-гептиламин, 1-октиламин и 1-нониламмин, образуют изотропные растворы, а добавление высаливающего агента способствует разделению фаз и обеспечивает извлечение целевых аналитов, что было показано в работе [128]. В случае 1-бутиламина и 1-пентиламина разделения фаз не наблюдалось из-за их высокой растворимости в водной фазе. Изотропный раствор, полученный с 1-дециламинол, был очень вязким, а добавление хлорида натрия не приводило к образованию фазы, обогащённой мицеллами.

Системы, содержащие пивалевую кислоту, позволили значительно улучшить эффективность экстракции для более растворимых в воде аналитов (триадимефон и триадименол) благодаря меньшей гидрофобности пивалевой кислоты (рис. 6).



**Рисунок 6.** Выбор оптимального состава экстракционной смеси

( $V_{\text{водного раствора}} = 1 \text{ мл}$ ,  $C_{\text{смеси пестицидов}} = 100 \text{ мкг/л}$ ,  $V_{\text{экстракционной смеси}} = 50 \text{ мкл}$ ,  
 $V_{25\% \text{ NaCl}} = 200 \text{ мкл}$ )

Было обнаружено, что смешанная поверхностно-активная система на основе 1-нониламина и пивалеовой кислоты (3:2, об./об.) обеспечила наилучшую степень извлечения (76,2-101,5 %). Данный показатель был рассчитан как отношение количества аналита, которое было выделено в мицеллярную фазу, к общему количеству анализируемого вещества, которое содержалось в растворе образца: 
$$\text{Степень извлечения} = \frac{C_{\text{вф}} \cdot V_{\text{вф}}}{C_o \cdot V_o} 100\%$$
, где  $C_{\text{вф}}$  и  $C_o$  – концентрации аналитов в выделенной фазе, обогащенной мицеллами, и в растворе образца, соответственно,  $V_{\text{вф}}$  и  $V_o$  – объем выделенной фазы, обогащенной мицеллами, и объем раствора образца, соответственно. Поэтому смесь 1-нониламина и пивалеовой кислоты (3:2, об./об.) была выбрана для дальнейших экспериментов в качестве наиболее подходящей экстракционной смеси.

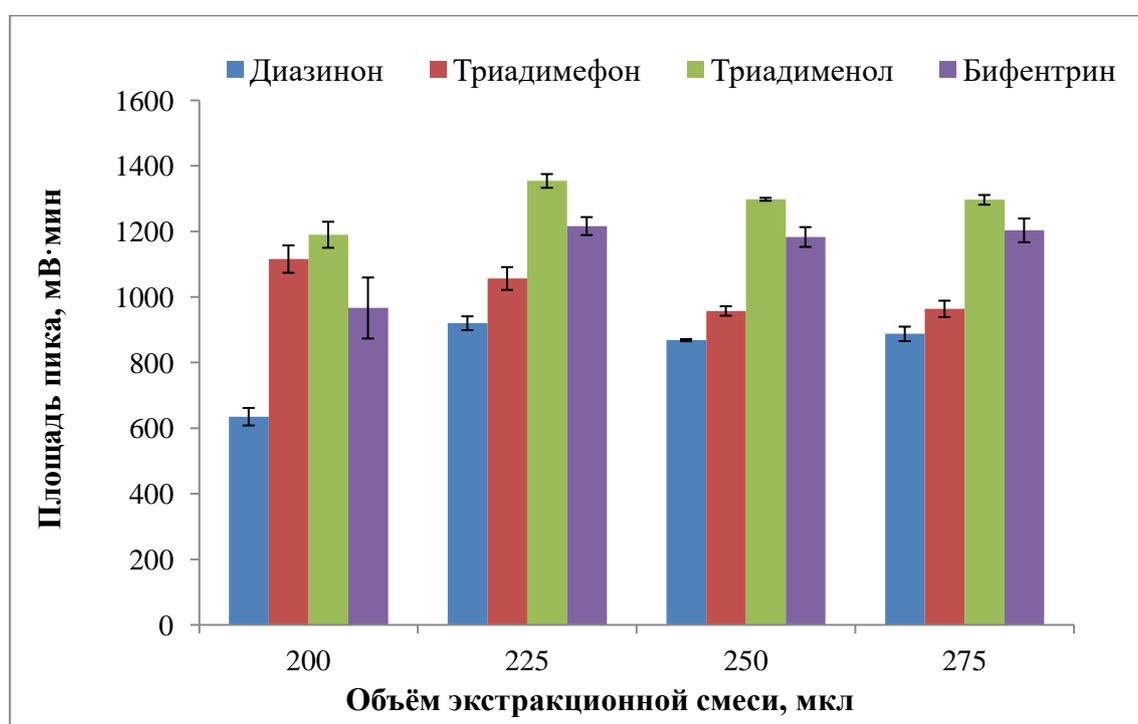
### 3.3.2 Изучение влияния объёма экстракционной смеси

С целью уменьшения вязкости добавляемой экстракционной смеси 1-нониламина и пивалеовой кислоты (3:2, об./об.), было принято решение разбавлять данную систему деионизованной водой. Были изучены различные соотношения деионизованной воды и экстракционной смеси (1:1, 2:1, об./об.), однако соотношение, равное 1:1, что соответствует отношению 1-нониламина, пивалеовой кислоты и деионизованной воды, как 3:2:5 (об./об./об.), обеспечило более высокие значения аналитических сигналов. Введение деионизованной воды в состав экстракционной смеси позволило значительно уменьшить её вязкость, что, в свою очередь, заметно повлияло на воспроизводимость результатов, а кроме того, упростило процесс её отбора и ввода в систему за счет возможности использования дозатора.

Таким образом, эксперимент проводился следующим образом: к 3,8 мл водного раствора смеси пестицидов с концентрацией 100 мкг/л добавляли определённый объём экстракционной смеси, состоящей из 1-нониламина, пивалеовой кислоты и деионизованной воды (3:2:5, об./об./об.), тщательно перемешивали систему, а затем добавляли 750 мкл насыщенного раствора хлорида натрия, вновь интенсивно перемешивали и центрифугировали в течении 5 минут

при скорости 5000 об./мин. Выделившуюся фазу анализировали на газовом хроматографе с масс-спектрометрическим детектированием согласно пункту 3.2.

Объём экстракционной смеси изучался в диапазоне от 200 мкл, минимального объёма, при котором происходит разделение фаз, до 275 мкл с целью сокращения расхода реагентов. Как видно из диаграммы, представленной на рисунке 7, аналитический сигнал в данном интервале практически не изменяется. Однако среднее квадратичное отклонение при 200 мкл больше, чем при 225 мкл. В связи с этим, объём экстракционной смеси, состоящей из 1-нониламина, пивалевой кислоты и деионизованной воды (3:2:5, об./об./об.), равный 225 мкл, был выбран в качестве оптимального для дальнейших исследований.



**Рисунок 7.** Выбор оптимального объёма экстракционной смеси

( $V_{\text{водного раствора}} = 3,8 \text{ мл}$ ,  $C_{\text{смеси пестицидов}} = 100 \text{ мкг/л}$ ,  $V_{25\% \text{ NaCl}} = 750 \text{ мкл}$ )

### 3.3.3 Изучение влияния типа высаливающего агента

Следующим важным этапом оптимизации был выбор высаливающего агента, способного обеспечивать разделение фаз. Известно, что некоторые вещества способны уменьшать растворимость определённых соединений, смешивающихся с водной фазой при обычных условиях, что способствует образованию отдельной фазы, с выделенными в неё анализами [130]. Такой эффект был назван

высаливанием. Он основан на том, что уменьшается влияние слабых межмолекулярных сил, например, водородных связей, между органическими молекулами или неэлектролитами и водой за счёт гидратации высаливающих агентов [131].

Так, были изучены наиболее популярные высаливающие агенты, такие как хлорид натрия, сульфат аммония, гидрофосфат натрия, ацетат аммония, карбонат калия. Также, было исследовано влияние высаливающего агента (глюкозы), и полярного растворителя (ацетонитрила), которые способны оказывать схожие эффекты.

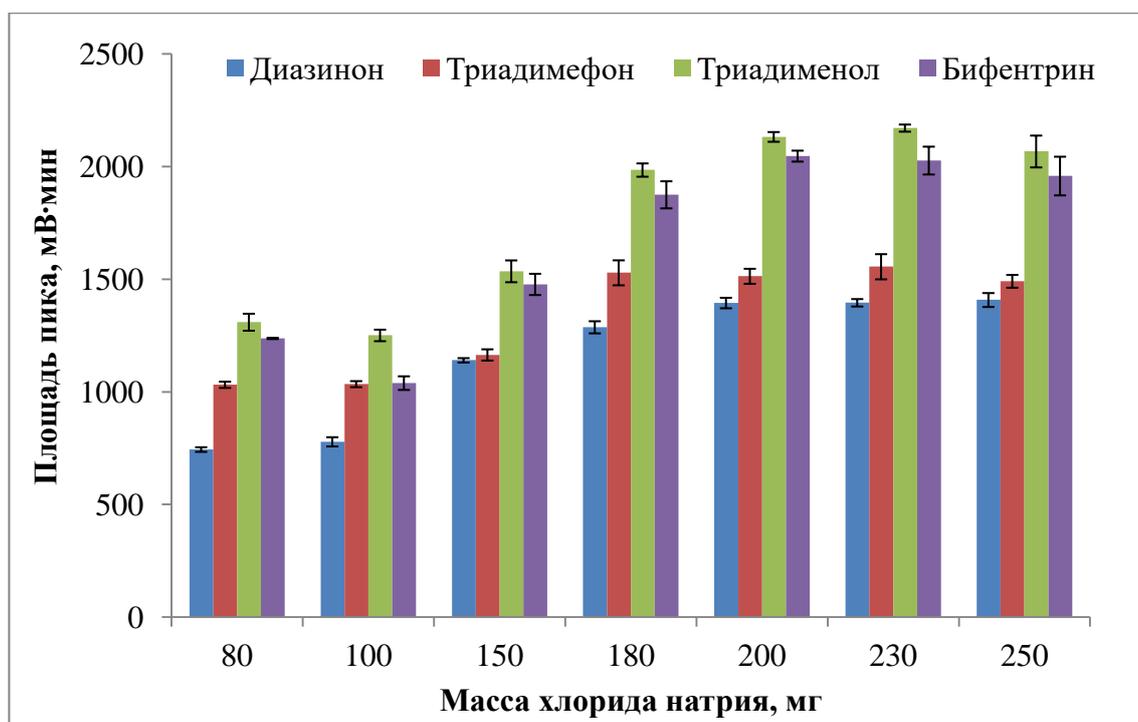
Было обнаружено, что образование мицелло-обогащённой фазы происходило только после добавления хлорида натрия. В остальных случаях образования фазы не наблюдалось. Сульфат аммония, гидрофосфат натрия и карбонат калия обеспечивали образование осадка, который являлся, по всей видимости, солью амина. Таким образом, хлорид натрия был выбран в качестве высаливающего агента.

### **3.3.4 Изучение влияния массы высаливающего агента**

С целью уменьшения влияния разбавления анализируемого водного раствора раствором высаливающего агента, было решено добавлять его в качестве сухого вещества. В связи с этим необходимо было выбрать оптимальную массу хлорида натрия.

Была изучена масса соли от наименьшей (80 мг), при которой наблюдается образование мицелло-обогащённой фазы, до максимальной (250 мг), при которой хлорид натрия уже не растворялся в системе.

Как видно из данных, представленных на рисунке 8, аналитический сигнал возрастает при увеличении массы высаливающего агента до 200 мг. Таким образом, эта масса была выбрана для дальнейших экспериментов из-за более низких стандартных отклонений и более высоких аналитических сигналов.



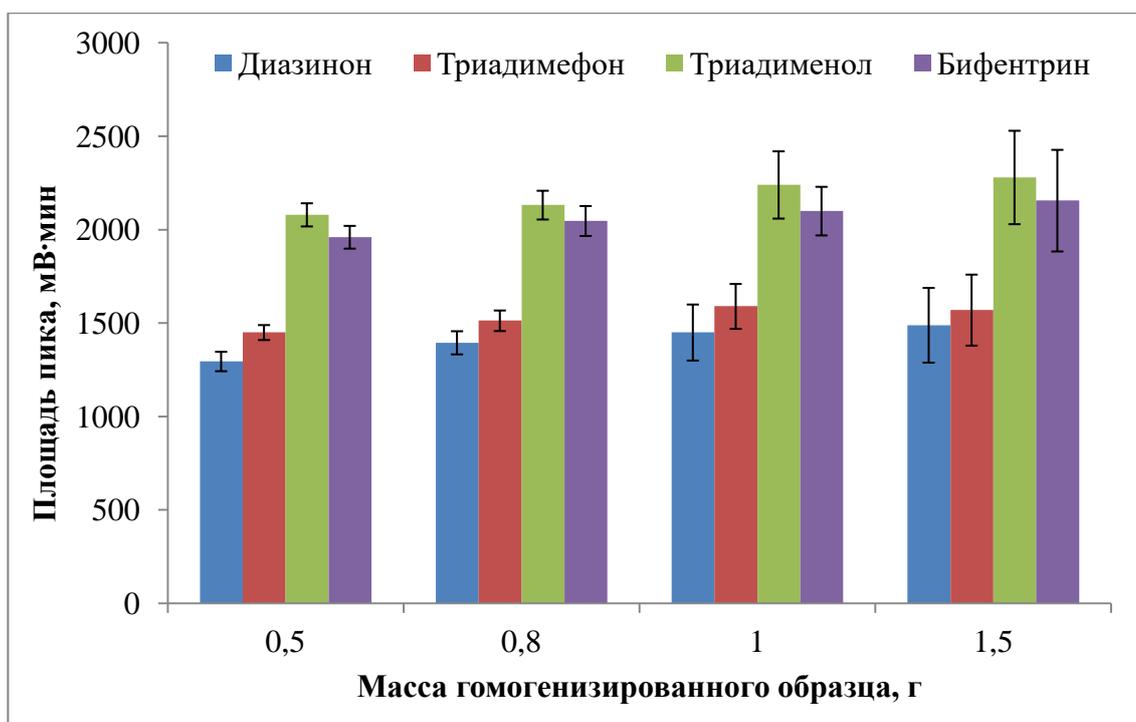
**Рисунок 8.** Выбор оптимальной массы хлорида натрия

( $V_{\text{водного раствора}} = 3,8$  мл,  $C_{\text{смеси пестицидов}} = 100$  мкг/л,  $V_{\text{экстракционной смеси}} = 225$  мкл)

### 3.3.5 Изучение влияния массы гомогенизированного образца

Поскольку различные компоненты матрицы твёрдофазных объектов анализа способны оказывать мешающее влияние, необходимо было оптимизировать массу гомогенизированных образцов. Для этого в соответствующую навеску гомогенизированного образца (от 0,5 до 1,5 г), помещённую в пенициллиновый флакон, вводили добавку смеси пестицидов с концентрацией 100 мкг/л, а затем осуществляли анализ согласно пункту 3.1. Данные представлены на рисунке 9. Можно заметить, что аналитический сигнал в данном диапазоне почти не изменяется. Значения СКО для масс от 0,5 до 0,8 г составляли от 2 до 4 %, а для масс от 0,9 до 1,5 г составляли от 6 до 13 %. Масса, равная 0,8 г, была выбрана оптимальной, поскольку обеспечивала наименьший разброс значений при меньшем разбавлении образца.

Стоит отметить, что оптимальным временем экстракции (время, в течение которого встряхивали систему после добавления высаливающего агента) было время, равное одной минуте, потому как при увеличении времени процедуры никаких изменений аналитических сигналов не наблюдалось.



**Рисунок 9.** Выбор оптимальной массы гомогенизированного образца ( $V_{\text{водного раствора}} = 3,8$  мл,  $C_{\text{смеси пестицидов}} = 100$  мкг/л,  $V_{\text{экстракционной смеси}} = 225$  мкл,  $m_{\text{NaCl}} = 200$  мг)

### 3.4 Исследование мицелло-обогащённой фазы

Для того чтобы предположить механизм извлечения аналитов по предложенной схеме пробоподготовки, а также подтвердить наличие мицелл в мицелло-обогащённой фазе, и предположить её организацию, были проведены дополнительные исследования.

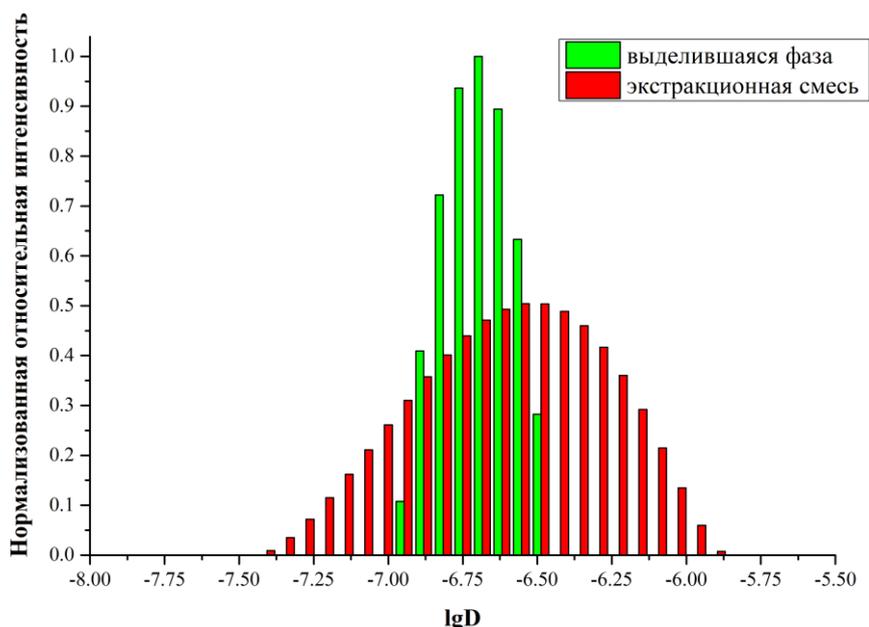
#### 3.4.1 Исследование мицелло-обогащённой фазы методом динамического рассеяния света

Подтверждение наличия мицелл в выделившейся мицелло-обогащённой фазе осуществлялось с помощью метода динамического рассеяния света на установке с «PhotoCor Complex» (Фотокор, Россия). Принцип метода состоит в измерении корреляционной функции флуктуаций интенсивности рассеянного света. Флуктуации возникают из-за броуновского движения дисперсных частиц или макромолекул в жидкости при прохождении лазерного луча через дисперсную среду. Анализ корреляционной функции позволяет получить распределение характерных времён

релаксаций флуктуаций числа частиц в рассеивающем объеме, а также распределение по размерам частиц и коэффициент их диффузии [132].

Результаты измерений показали, что в случае деионизованной воды, 1-нониламина и пивалевой кислоты автокорреляционная функция не накапливается. Такая картина характерна для оптически чистых жидкостей, то есть можно сделать вывод о том, что в данных средах мицеллярных агрегатов не было.

Анализ выделившейся фазы и экстракционной смеси, показал, что можно измерить автокорреляционную функцию. Распределения коэффициентов диффузии ( $D$ ), рассчитанные по данным, полученным при угле рассеяния  $90^\circ$ , представлены на рисунке 10. Каждое распределение с одним пиком показывает, что был сформирован один тип супрамолекулярной структуры, имеющей аналогичное диффузионное поведение. Коэффициенты диффузии  $(31,9 \pm 0,7) \cdot 10^{-8} \text{ см}^2 \text{ с}^{-1}$  в экстракционной смеси и  $(28,9 \pm 0,2) \cdot 10^{-8} \text{ см}^2 \text{ с}^{-1}$  в выделившейся фазе для этих агрегатов были рассчитаны как средние значения ( $n=7$ ) из измерений, полученных при углах рассеяния от  $40$  до  $100^\circ$  с шагом  $10^\circ$ . Для чистых веществ коэффициенты диффузии существенно выше:  $2,3 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ с}^{-1}$  для воды [133],  $0,6 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ с}^{-1}$  для 1-нониламина [134],  $0,9 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2 \text{ с}^{-1}$  для пивалевой кислоты [135]. Это доказывает то, что произошла агрегация молекул, и сформировались супрамолекулярные структуры – мицеллы.



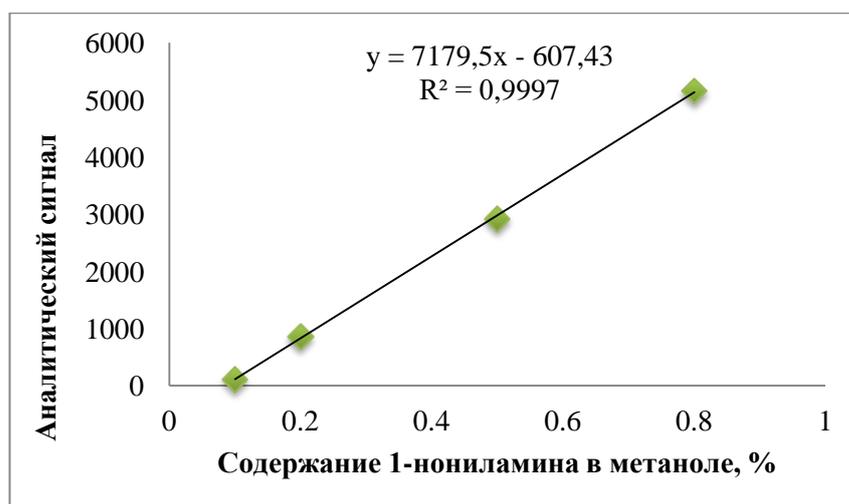
**Рисунок 10.** Распределение коэффициентов диффузии ( $D$ ) для супрамолекулярных структур в выделившейся фазе и в экстракционной смеси ( $T = 293 \text{ K}$ , угол рассеяния  $90^\circ$ )

### 3.4.2 Определение содержания 1-нониламина, пивалевой кислоты и воды в выделившейся мицелло-обогащённой фазе

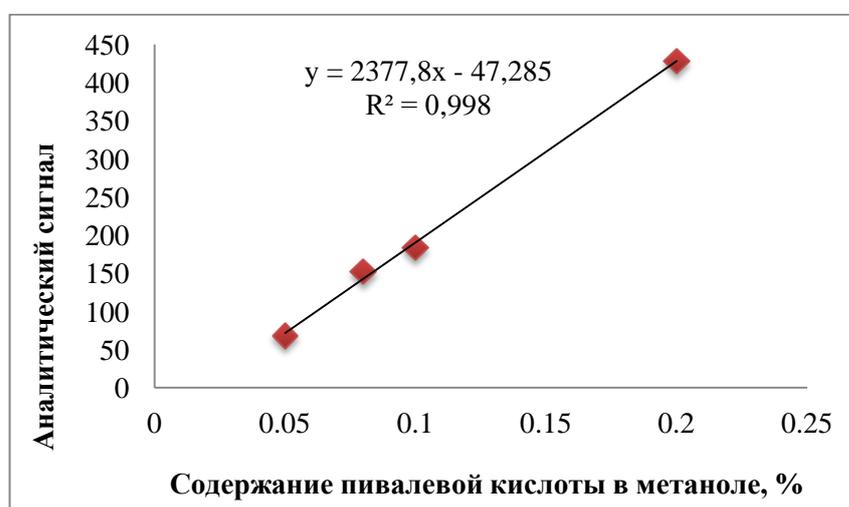
Определение содержания 1-нониламина и пивалевой кислоты в выделившейся мицелло-обогащённой фазе проводилось с помощью газового хроматографа «Кристалл 5000» (Хроматек, Россия) с пламенно-ионизационным детектированием. При этом разделение осуществлялось на капиллярной колонке «Optima 1» (25 м × 0,32 мм × 0,35 мкм; Macherey-Nagel, Германия). Условия определения 1-нониламина были следующие: термостатирование колонки осуществлялось при 100 °С; инжектируемый объём пробы составил 0,5 мкл; скорость потока газа-носителя – азота равнялась 2,2 мл/мин, а температура инжектора была установлена на 250 °С. Условия определения пивалевой кислоты отличались: температурный режим изменялся от 65 °С (в течение 2 минут) до 225 °С при скорости 20 °С/мин; инжектируемый объём пробы был равен 1 мкл; скорость потока гелия составила 2,2 мл/мин.

Были построены градуировочные зависимости аналитического сигнала (площадь пика) от содержания амина (рис. 11) или карбоновой кислоты в метаноле (рис. 12). Данные зависимости были получены путём приготовления модельных растворов 1-нониламина/ пивалевой кислоты в метаноле. Линейный диапазон определяемых концентраций для 1-нониламина составил 0,1-0,8 %, а для пивалевой кислоты – 0,05-0,2 %.

Далее к 3,8 мл воды добавляли 225 мкл экстракционной смеси, состоящей из 1-нониламина, пивалевой кислоты и деионизованной воды (3:2:5, об./об./об.), перемешивали, а затем добавляли 200 мг хлорида натрия, снова перемешивали и центрифугировали в течении 5 минут при 5000 об./мин. После центрифугирования отбирали 20 мкл выделившейся фазы и разбавляли в 100 раз метанолом. Получившуюся систему анализировали на ГХ-ПИД, как было описано ранее. После трёх параллельных измерений было установлено, что содержание 1-нониламина в выделившейся мицелло-обогащённой фазе составляет  $(17,2 \pm 1,0)$  % (об./об.), а пивалевой кислоты –  $(8,0 \pm 0,3)$  % (об./об.).



**Рисунок 11.** Градуировочная зависимость для определения содержания 1-нониламина в мицелло-обогащённой фазе



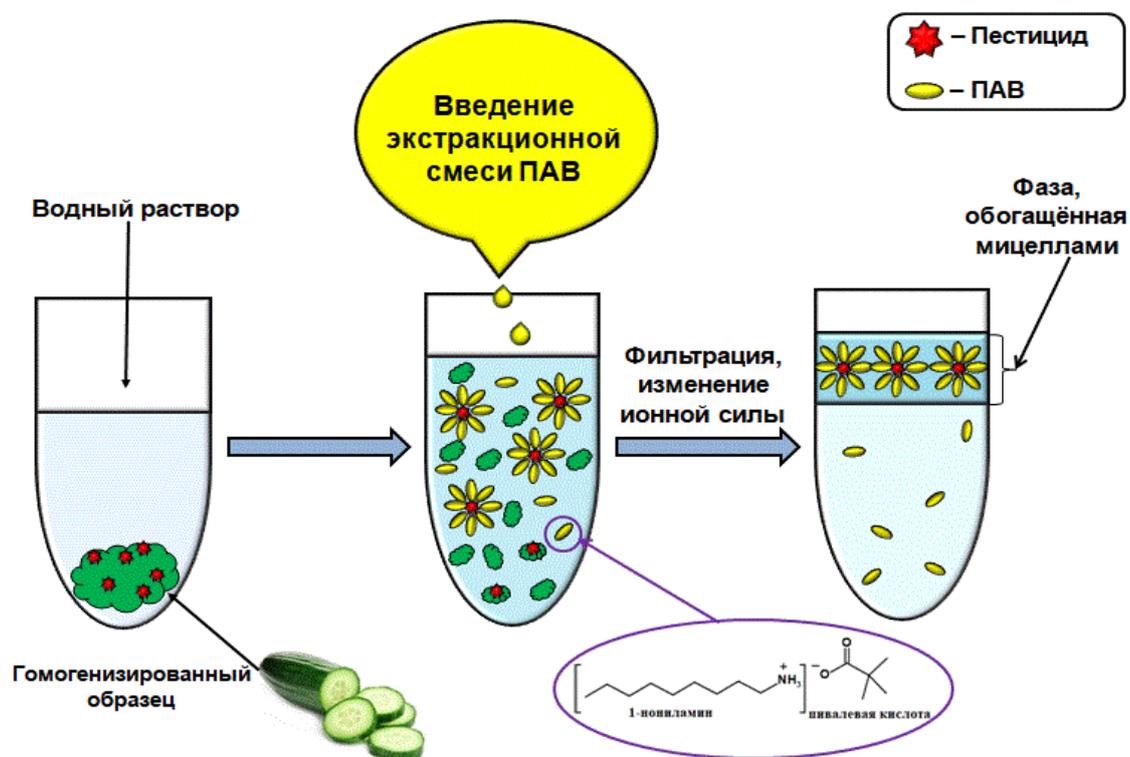
**Рисунок 12.** Градуировочная зависимость для определения содержания пивалевой кислоты в мицелло-обогащённой фазе

Определение содержания воды в выделившейся мицелло-обогащённой фазе осуществлялось с помощью кулонометрического титрования методом Карла Фишера на кулонометре «831 KF Coulometer» (Metrohm, Швейцария). Данная методика основана на взаимодействии воды с реагентом Карла Фишера, состоящим из раствора основания (например, пиридина), диоксида серы и йода в метаноле: в присутствии воды йод окисляет диоксид серы, при этом один моль йода окисляет один моль воды. Далее по закону Фарадея рассчитывается содержание воды, исходя из количества электричества, пошедшего на генерирование йода [136].

Было также проведено три параллельных определения. В результате чего, было выяснено, что содержание воды в выделившейся мицелло-обогащённой фазе составляет  $(75,0 \pm 1,0) \%$  (об./об.), что подтверждает значения содержаний 1-нониламина и пивалеовой кислоты в исследуемой фазе.

### 3.4.3 Механизм предложенной схемы мицеллярной жидкостно-жидкостной микроэкстракции

На основании полученных данных можно предположить механизм экстракции, который представлен на рисунке 13.



**Рисунок 13.** Механизм мицеллярной жидкостно-жидкостной микроэкстракции

При введении экстракционной смеси (1-нониламин, пивалеовая кислота и деионизованная вода (3:2:5, об./об./об.)) в водный раствор образуется раствор, содержащий мицеллы. Далее аналиты из твёрдофазного гомогенизированного образца экстрагируются в образующийся мицеллярный раствор, после чего при изменении ионной силы за счёт добавления хлорида натрия происходит агрегация мицелл и разделение фаз. Выделенная фаза, обогащённая мицеллами, содержит целевые аналиты. Состав данной фазы предполагает содержание 1-нониламина и

пивалевой кислоты в соотношении 3:2 (об./об.), что соответствует соотношению 1:1 (моль/моль). Движущей силой процесса образования мицелл является электростатическое взаимодействие между положительным зарядом на 1-нониламине и отрицательным зарядом на пивалевой кислоте.

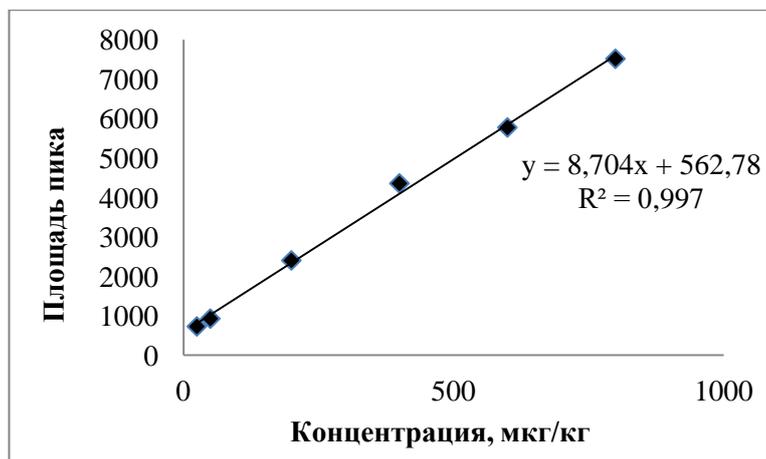
Можно предположить, что извлечение аналитов в фазу, обогащённую мицеллами поверхностно-активных веществ, обеспечивается гидрофобными взаимодействиями между гидрофобными хвостами молекул 1-нониламина/пивалевой кислоты и неполярными молекулами пестицидов.

### 3.5 Аналитические характеристики разработанной схемы

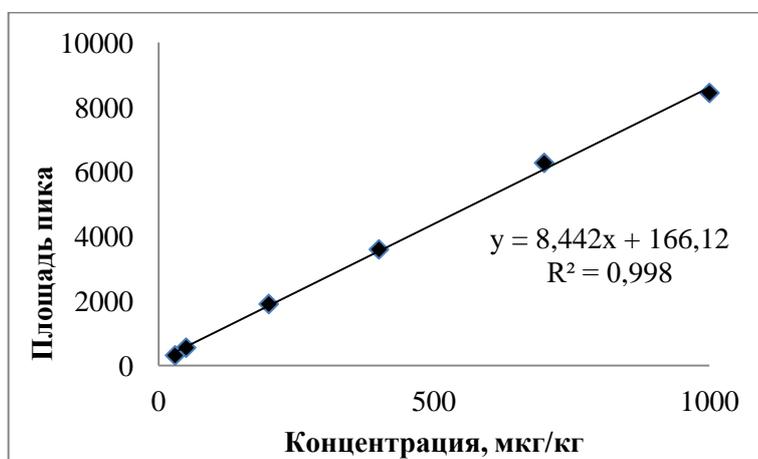
В выбранных оптимальных условиях была проведена серия экспериментов, которая позволила установить аналитические характеристики разработанной схемы анализа: линейный диапазон определяемых концентраций, предел обнаружения, коэффициент корреляции и прецизионность (табл. 10).

**Таблица 10.** Аналитические характеристики разработанной схемы

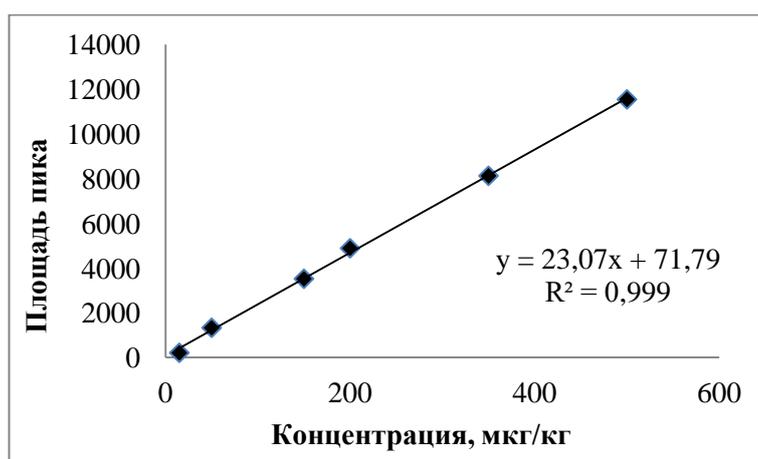
Аналит	ЛДОК, мкг/кг	Коэффициент корреляции	ПО, мкг/кг	СКО, %		Коэффициент концентрации	Время пробоподготовки, мин
				В один день (С=500 мкг/кг, n=4)	В разные дни (С=500 мкг/кг, n=4)		
Диазинон	25-800	0,997	8	2	6	11	7
Триадимефон	30-1000	0,998	10	6	9	14	
Триадименол	15-500	0,999	5	5	7	15	
Бифентрин	3-1200	0,991	1	3	5	11	



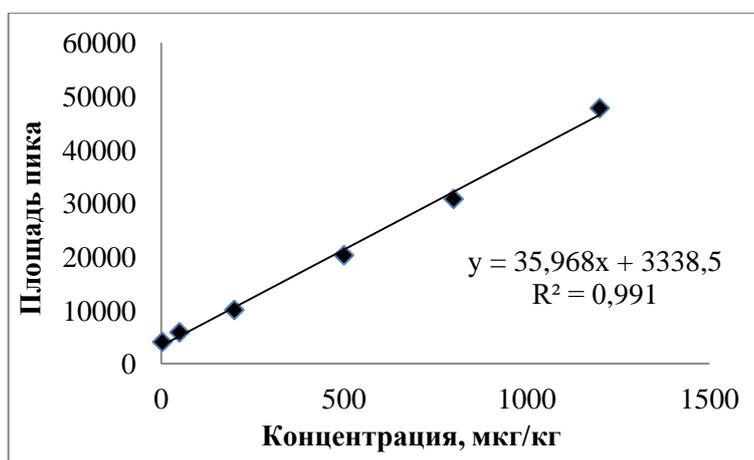
**Рисунок 14.** Градуировочная зависимость для определения содержания диазинона с применением предложенной схемы анализа



**Рисунок 15.** Градуировочная зависимость для определения содержания триадимефона с применением предложенной схемы анализа



**Рисунок 16.** Градуировочная зависимость для определения содержания триадименола с применением предложенной схемы анализа



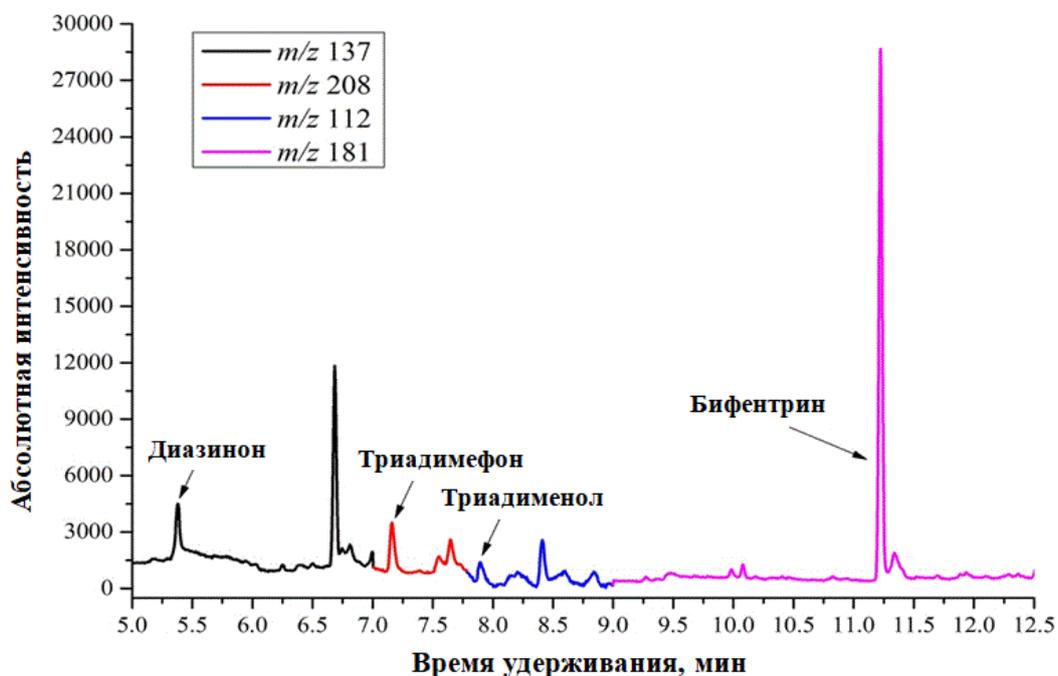
**Рисунок 17.** Градуировочная зависимость для определения содержания бифентрина с применением предложенной схемы анализа

Извлечение осуществляли из водных смешанных растворов пестицидов, в которых концентрации аналитов были одинаковыми. Градуировочные зависимости являлись линейными в следующих линейных диапазонах определяемых концентраций (ЛДОК): 25-800 мкг/кг для диазинона (рис. 14), 30-1000 мкг/кг для триадимефона (рис. 15), 15-500 мкг/кг для триадименола (рис.16) и 3-1200 мкг/кг для бифентрина (рис. 17). Коэффициенты корреляции составляли от 0,991 до 0,999. Пределы обнаружения, рассчитанные по  $3\sigma$ , составили: 8 мкг/кг для диазинона, 10 мкг/кг для триадимефона, 5 мкг/кг для триадименола и 1 мкг/кг для бифентрина. Среднеквадратичные отклонения (СКО) в условиях повторяемости составили от 2 до 6 % в один день и от 5 до 9 % в разные дни при концентрации каждого аналита 500 мкг/кг ( $n=4$ ). Время процедуры пробоподготовки составило 7 минут. Время ГХ-МС анализа составило 12 мин.

Описанная схема извлечения является простой, легкой, быстрой и экологически безопасной, а выделяющаяся мицелло-обогащённая фаза не такая вязкая, как в разработанных ранее методиках пробоподготовки, основанных на мицеллярной экстракции. Для сравнения были измерены кинематические значения вязкости при 25 °С для мицелло-обогащённых фаз: для Тритона X-100 (30%, масс./об.) из работы [124] и экстракционной смеси (1-нониламмин, пивалевая кислота и деионизованная вода (3:2:5, об./об./об.)), применяемой в данном исследовании. Значения составили  $1070 \pm 33$  мм<sup>2</sup>/с и  $15,3 \pm 0,4$  мм<sup>2</sup>/с, соответственно.

### 3.6 Испытание разработанной схемы на реальных образцах

Возможности разработанной схемы были продемонстрированы на примере определения диазинона, триадимефона, триадименола и бифентрина в двух образцах огурцов и одном образце детского овощного питания. Концентрации целевых аналитов в реальных образцах, полученных стандартным методом добавок, приведены в таблице 11. Только в одном образце (гладкие длинноплодные огурцы) был обнаружен один пестицид (триадименол). Однако его содержание не превысило концентрации, установленной нормами (ПДК триадименола в огурцах = 100 мкг/кг [137]). Хроматограмма детского овощного питания, полученная после проведения экстракции по разработанной схеме анализа, представлена на рисунке 18.



**Рисунок 18.** Хроматограмма детского овощного питания, полученная после проведения экстракции по разработанной схеме анализа ( $C_{\text{диазинон}} = 500$  мкг/кг,  $C_{\text{триадимефон}} = 500$  мкг/кг,  $C_{\text{триадименол}} = 100$  мкг/кг,  $C_{\text{бифентрин}} = 1000$  мкг/кг)

Правильность полученных результатов была подтверждена референтным методом, в качестве которого была выбрана классическая процедура экстракции с высаливанием и последующим анализом на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектированием [138]. Процедура предполагала растворение 400 мг хлорида натрия в воде, содержащей 400 мг гомогенизированного образца. К полученной системе добавляли 80 мкл толуола, тщательно перемешивали в течение

10 минут, а затем центрифугировали в течение 2 минут при 5000 об/мин. Выделившуюся органическую фазу инжескировали в ГХ-ПИД систему. Температурный режим разделения был запрограммирован следующим образом: 100 °С в течение двух минут, далее происходило увеличение температуры со 100 °С до 290 °С со скоростью 15 °С/мин, и температура удерживалась в течение 6 минут при 290 °С. Температура инжектора и детектора составляла 250 °С.

Результаты, полученные с помощью двух методов, были сравнены с помощью t- и F-тестов. Полученные F-значения  $\leq 19$  указывают на незначительное различие в величинах стандартных отклонений, а полученные t-значения  $\leq 2,78$  указывают на то, что нет статистически значимого различия между результатами, полученными при помощи двух методов. Данные представлены в таблице 11.

**Таблица 11.** Результаты определения диазинона, триадимефона, триадименола и бифентрина в детском овощном питании и огурцах с помощью разработанной и референтной методик ( $n=3$ ,  $P=0,95$ ,  $F_{кр.} = 19$ ,  $t_{кр.} = 2,78$ )

Образец	Аналит	Введено, мкг/кг	Найдено, мкг/кг		t- тест	F- тест	
			ГХ-МС	ГХ-ПИД			
Детское овощное питание	Диазинон	0	<ПО	<ПО			
		250	243 ± 10	240 ± 11	0,67	1,10	
		500	497 ± 13	475 ± 18	2,02	2,19	
	Триадимефон	0	<ПО	<ПО			
		250	248 ± 12	252 ± 10	0,83	1,98	
		500	501 ± 20	512 ± 19	0,80	1,16	
	Триадименола	0	<ПО	<ПО			
		50	52 ± 3	51 ± 4	0,32	2,22	
		100	103 ± 10	108 ± 9	1,58	2,40	
	Бифентрин	0	<ПО	<ПО			
		500	496 ± 17	501 ± 11	0,44	2,44	
		1000	968 ± 30	1011 ± 10	2,74	13,07	
	Огурцы гладкие длинноплодные	Диазинон	0	<ПО	<ПО		
			250	250 ± 16	245 ± 9	0,73	3,26
			500	510 ± 10	496 ± 27	1,06	16,41

	Триадимефон	0	<ПО	<ПО		
		250	250 ± 10	251 ± 18	0,03	10,15
		500	513 ± 25	503 ± 8	0,75	9,28
	Триадименол	0	23 ± 2	23 ± 1	0,51	3,99
		50	74 ± 7	75 ± 2	0,35	17,26
		100	122 ± 2	123 ± 2	1,38	2,25
	Бифентрин	0	<ПО	<ПО		
		200	209 ± 19	196 ± 8	1,24	6,21
		400	403 ± 23	397 ± 5	0,50	18,94
Огурцы колючие короткоплодные	Диазинон	0	<ПО	<ПО		
		250	248 ± 30	250 ± 12	0,39	10,35
		500	511 ± 25	515 ± 11	0,30	6,02
	Триадимефон	0	<ПО	<ПО		
		250	256 ± 11	252 ± 10	0,54	5,38
		500	502 ± 18	494 ± 11	0,85	4,87
	Триадименол	0	<ПО	<ПО		
		50	50 ± 2	50 ± 1	0,39	3,53
		100	103 ± 9	99 ± 3	0,79	13,32
	Бифентрин	0	<ПО	<ПО		
		200	216 ± 17	202 ± 12	1,41	3,04
		400	420 ± 45	395 ± 19	1,13	5,07

## Выводы

✓ Разработана новая схема мицеллярной жидкостно-жидкостной микроэкстракции, в основе которой лежит использование смешанного поверхностно-активного вещества, состоящего из первичного амина и карбоновой кислоты;

✓ Разработанная схема является простой, экспрессной, чувствительной и экологически безопасной; предназначена для определения диазинона, триадимефона, триадименола и бифентрина в твёрдофазных пищевых продуктах, не требует дополнительного оборудования и легко сочетается с ГХ-МС детектированием;

✓ Оптимизированы параметры, влияющие на эффективность микроэкстракции: состав и объём экстракционной смеси, тип и концентрация высаливающего агента, масса гомогенизированного образца;

✓ Аналитические возможности разработанной схемы показаны на примере определения диазинона, триадимефона, триадименола и бифентрина в различных образцах огурцов и образце детского овощного питания, полученные результаты подтверждены референтным методом.

## **Благодарность**

Автор выражает искреннюю благодарность к.х.н. Тимофеевой Ирине Игоревне и д.х.н. Булатову Андрею Васильевичу за неоценимую помощь и поддержку, оказанную при выполнении данного исследования, а также глубокую признательность инженеру «Ресурсного центра диагностики функциональных материалов для медицины, фармакологии и наноэлектроники» Везо Ольге Сергеевне за сотрудничество и помощь в обработке полученных данных. Также автор благодарит «Ресурсный образовательный центр по направлению химия» за предоставленные ресурсы и оборудование.

## Список литературы

1. M. Rusch, G. Cameron, and K. Hohgardt, "Pesticide MRLs and Impact on Global Trade," L. Melton, F. Shahidi, and P. B. T.-E. of F. C. Varelis, Eds. Oxford: Academic Press, p. 428–432, 2019.
2. J. L. Martínez Vidal, P. Plaza-Bolaños, R. Romero-González, and A. Garrido Frenich, "Determination of pesticide transformation products: A review of extraction and detection methods," *J. Chromatogr. A*, vol. 1216, no. 40, p. 6767–6788, 2009.
3. Y. Yamini and M. Ghambarian, "3.33 - Environmental Applications of Cloud-Point Extraction," J. B. T.-C. S. and S. P. Pawliszyn, Ed. Oxford: Academic Press, p. 657–680, 2012.
4. R. Elibariki and M. M. Maguta, "Status of pesticides pollution in Tanzania – A review," *Chemosphere*, vol. 178, p. 154–164, 2017.
5. C. J. Liu, W. J. Men, Y. J. Liu, and H. Zhang, "The pollution of pesticides in soils and its bioremediation," *Syst. Sci. Compr. Stud. Agric.*, vol. 18, no. 4, p. 295–297, 2002.
6. "World Health Organization et al. International code of conduct on pesticide management: guidelines on highly hazardous pesticides", Food & Agriculture Org., 2018.
7. J. T. McClintock, J. L. Kough, and R. D. Sjoblad, "Regulatory Oversight of Biochemical Pesticides by the U.S. Environmental Protection Agency: Health Effects Considerations," *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 19, no. 1, p. 115–124, 1994.
8. S. Kumar and A. Singh, "Biopesticides: Present Status and the Future Prospects," *J. Fertil. Pestic.*, vol. 6, p. 129, 2015.
9. R. M. de Souza, D. Seibert, H. B. Quesada, F. de Jesus Bassetti, M. R. Fagundes-Klen, and R. Bergamasco, "Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review," *Process Saf. Environ. Prot.*, vol. 135, p. 22–37, 2020.
10. I. Md Meftaul, K. Venkateswarlu, R. Dharmarajan, P. Annamalai, and M. Megharaj, "Pesticides in the urban environment: A potential threat that knocks at the door," *Sci. Total Environ.*, vol. 711, p. 134612, 2020.
11. S. Khalid et al., "A critical review of different factors governing the fate of pesticides in soil under biochar application," *Sci. Total Environ.*, vol. 711, p. 134645, 2020.
12. Груздев Г. С. и др. Химическая защита растений //М.: Агропромиздат. с.

319-323, 1987.

13. B. Liang and L. Han, "Displaying of acetylcholinesterase mutants on surface of yeast for ultra-trace fluorescence detection of organophosphate pesticides with gold nanoclusters," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 148, p. 111825, 2020.

14. P. Kaushik and G. Kaushik, "An assessment of structure and toxicity correlation in organochlorine pesticides," *J. Hazard. Mater.*, vol. 143, no. 1, p. 102–111, 2007.

15. M. C. K. Leung and J. N. Meyer, "Mitochondria as a target of organophosphate and carbamate pesticides: Revisiting common mechanisms of action with new approach methodologies," *Reprod. Toxicol.*, vol. 89, p. 83–92, 2019.

16. H. Zhan, Y. Huang, Z. Lin, P. Bhatt, and S. Chen, "New insights into the microbial degradation and catalytic mechanism of synthetic pyrethroids," *Environ. Res.*, vol. 182, p. 109-138, 2020.

17. Y. Wang, P. Xu, J. Chang, W. Li, L. Yang, and H. Tian, "Unraveling the toxic effects of neonicotinoid insecticides on the thyroid endocrine system of lizards," *Environ. Pollut.*, vol. 258, p. 113731, 2020.

18. M. Tasheva, "Pesticide Residues: Conazoles," Y. B. T.-E. of F. S. Motarjemi, Ed. Waltham: Academic Press, p. 1–4, 2014.

19. N. Georgiadis et al., "Pesticides and cardiotoxicity. Where do we stand?," *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 353, p. 1–14, 2018.

20. A. Singh et al., "Advances in controlled release pesticide formulations: Prospects to safer integrated pest management and sustainable agriculture," *J. Hazard. Mater.*, vol. 385, p. 121-525, 2020.

21. T. Tuzimski, "Herbicides and Pesticides," Oxford: Academic Press, p. 391–398, 2019.

22. S. Sitaramaraju, N. Prasad, V. C. Reddy, and E. Narayana, "Impact of pesticides used for crop production on the environment," *J. Chem. Pharm. Sci.*, vol. 3, p. 75–79, 2014.

23. A. F. Hernández, T. Parrón, A. M. Tsatsakis, M. Requena, R. Alarcón, and O. López-Guarnido, "Toxic effects of pesticide mixtures at a molecular level: their relevance to human health," *Toxicology*, vol. 307, p. 136–145, 2013.

24. H. Zhang et al., “Bioaccumulation of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls by loaches living in rice paddy fields of Northeast China,” *Environ. Pollut.*, vol. 216, p. 893–901, 2016.
25. C. A. Damalas and I. G. Eleftherohorinos, “Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 8, no. 5, p. 1402–1419, 2011.
26. L. I. Simeonov, F. Z. Macaev, and B. G. Simeonova, *Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe*. Springer, 2014.
27. R. P. Rull and B. Ritz, “Historical pesticide exposure in California using pesticide use reports and land-use surveys: an assessment of misclassification error and bias,” *Environ. Health Perspect.*, vol. 111, no. 13, p. 1582–1589, 2003.
28. F. A. Swartjes and M. Van der Aa, “Measures to reduce pesticides leaching into groundwater-based drinking water resources: An appeal to national and local governments, water boards and farmers,” *Sci. Total Environ.*, vol. 699, p. 134-186, 2020.
29. C. S. Jacobsen and M. H. Hjelmso, “Agricultural soils, pesticides and microbial diversity,” *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 27, p. 15–20, 2014.
30. A. Sabarwal, K. Kumar, and R. P. Singh, “Hazardous effects of chemical pesticides on human health—Cancer and other associated disorders,” *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 63, p. 103–114, 2018.
31. S. E. Anderson and B. J. Meade, “Potential health effects associated with dermal exposure to occupational chemicals,” *Environ. Health Insights*, vol. 8, p.15258, 2014.
32. J. E. Yu, A. Mallapaty, and R. L. Miller, “It’s not just the food you eat: Environmental factors in the development of food allergies,” *Environ. Res.*, vol. 165, p. 118–124, 2018.
33. A. F. Hernández, T. Parrón, and R. Alarcón, “Pesticides and asthma,” *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 11, no. 2, p. 90–96, 2011.
34. C. Sylvie Azandjeme, M. Bouchard, B. Fayomi, F. Djrolo, D. Houinato, and H. Delisle, “Growing burden of diabetes in sub-saharan Africa: contribution of pesticides?,” *Curr. Diabetes Rev.*, vol. 9, no. 6, p. 437–449, 2013.
35. F. Moisan et al., “Association of Parkinson’s disease and its subtypes with

agricultural pesticide exposures in men: a case–control study in France,” *Environ. Health Perspect.*, vol. 123, no. 11, p. 1123–1129, 2015.

36. O. Mehrpour, P. Karrari, N. Zamani, A. M. Tsatsakis, and M. Abdollahi, “Occupational exposure to pesticides and consequences on male semen and fertility: a review,” *Toxicol. Lett.*, vol. 230, no. 2, p. 146–156, 2014.

37. J. Dich, S. H. Zahm, A. Hanberg, and H.-O. Adami, “Pesticides and cancer,” *Cancer Causes Control*, vol. 8, no. 3, p. 420–443, 1997.

38. J. George and Y. Shukla, “Pesticides and cancer: Insights into toxicoproteomic-based findings,” *J. Proteomics*, vol. 74, no. 12, p. 2713–2722, 2011.

39. C. C. Lerro et al., “Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study,” *Occup. Environ. Med.*, vol. 72, no. 10, p. 736–744, 2015.

40. C. Norman, “EPA halts dieldrin production.,” *Nature*, 1974.

41. C. Colosio, F. M. Rubino, and A. Moretto, “Pesticides,” *S. R. B. T.-I. E. of P. H.* (Second E. Quah, Ed. Oxford: Academic Press, p. 454–462, 2017.

42. W.-H. Leong et al., “Application, monitoring and adverse effects in pesticide use: The importance of reinforcement of Good Agricultural Practices (GAPs),” *J. Environ. Manage.*, vol. 260, p. 109-987, 2020.

43. Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals, World Health Organization. WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification. – World Health Organization, 2010.

44. A. Samsidar, S. Siddiquee, and S. M. Shaarani, “A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs,” *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 71, p. 188–201, 2018.

45. M. Dömötöröová and E. Matisová, “Fast gas chromatography for pesticide residues analysis,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1207, no. 1, p. 1–16, 2008.

46. A. Masiá, C. Blasco, and Y. Picó, “Last trends in pesticide residue determination by liquid chromatography–mass spectrometry,” *Trends Environ. Anal. Chem.*, vol. 2, p. 11–24, 2014.

47. C.-C. Hsu and C.-W. Whang, “Microscale solid phase extraction of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water and guava fruit extract using alumina-coated iron

oxide nanoparticles followed by capillary electrophoresis and electrochemiluminescence detection,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1216, no. 49, p. 8575–8580, 2009.

48. F. A. Esteve-Turrillas, A. Abad-Somovilla, G. Quiñones-Reyes, C. Agulló, J. V Mercader, and A. Abad-Fuentes, “Monoclonal antibody-based immunoassays for cyprodinil residue analysis in QuEChERS-based fruit extracts,” *Food Chem.*, vol. 187, p. 530–536, 2015.

49. T. M. G. Selva, W. R. de Araujo, R. P. Bacil, and T. R. L. C. Paixão, “Study of Electrochemical Oxidation and Quantification of the Pesticide Pirimicarb Using a Boron-Doped Diamond Electrode,” *Electrochim. Acta*, vol. 246, p. 588–596, 2017.

50. J. Li, W. Han, and Y. Yu, “Protein Engineering - Technology and Application. Chapter 2. Chromatography Method,” 2013.

51. P. N. Nesterenko and M. D. Palamareva, “Liquid Chromatography | Principles☆,” P. Worsfold, C. Poole, A. Townshend, and M. B. T.-E. of A. S. (Third E. Miró, Eds. Oxford: Academic Press, p. 231–237, 2019.

52. E. A. Moawed and A. M. Radwan, “Application of acid modified polyurethane foam surface for detection and removing of organochlorine pesticides from wastewater,” *J. Chromatogr. B*, vol. 1044, p. 95–102, 2017.

53. S. Zhang et al., “A zeolitic imidazolate framework based nanoporous carbon as a novel fiber coating for solid-phase microextraction of pyrethroid pesticides,” *Talanta*, vol. 166, p. 46–53, 2017.

54. R. P. Z. Furlani, K. M. Marcilio, F. M. Leme, and S. A. V. Tfouni, “Analysis of pesticide residues in sugarcane juice using QuEChERS sample preparation and gas chromatography with electron capture detection,” *Food Chem.*, vol. 126, no. 3, p. 1283–1287, 2011.

55. G. K. Blankson, P. Osei-Fosu, E. A. Adeendze, and D. Ashie, “Contamination levels of organophosphorus and synthetic pyrethroid pesticides in vegetables marketed in Accra, Ghana,” *Food Control*, vol. 68, p. 174–180, 2016.

56. X. Liu, B. Mitrevski, D. Li, J. Li, and P. J. Marriott, “Comprehensive two-dimensional gas chromatography with flame photometric detection applied to organophosphorus pesticides in food matrices,” *Microchem. J.*, vol. 111, p. 25–31, 2013.

57. M. A. Farajzadeh, M. R. A. Mogaddam, S. R. Aghdam, N. Nouri, and M.

Bamorrowat, "Application of elevated temperature-dispersive liquid-liquid microextraction for determination of organophosphorus pesticides residues in aqueous samples followed by gas chromatography-flame ionization detection," *Food Chem.*, vol. 212, p. 198–204, 2016.

58. M. A. Farajzadeh, B. Feriduni, and M. R. A. Mogaddam, "Development of counter current salting-out homogenous liquid–liquid extraction for isolation and preconcentration of some pesticides from aqueous samples," *Anal. Chim. Acta*, vol. 885, p. 122–131, 2015.

59. H. Katsumata, T. Matsumoto, S. Kaneco, T. Suzuki, and K. Ohta, "Preconcentration of diazinon using multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extraction adsorbents," *Microchem. J.*, vol. 88, no. 1, p. 82–86, 2008.

60. M. A. Farajzadeh, L. Khoshmaram, and A. A. A. Nabil, "Determination of pyrethroid pesticides residues in vegetable oils using liquid–liquid extraction and dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–flame ionization detection," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 34, no. 2, p. 128–135, 2014.

61. L. M. Ravelo-Pérez, J. Hernández-Borges, and M. Á. Rodríguez-Delgado, "Multi-walled carbon nanotubes as efficient solid-phase extraction materials of organophosphorus pesticides from apple, grape, orange and pineapple fruit juices," *J. Chromatogr. A*, vol. 1211, no. 1–2, p. 33–42, 2008.

62. M. Montemurro et al., "Highly sensitive quantitation of pesticides in fruit juice samples by modeling four-way data gathered with high-performance liquid chromatography with fluorescence excitation-emission detection," *Talanta*, vol. 154, p. 208–218, 2016.

63. H. He et al., "Mixed hemimicelles solid-phase extraction based on ionic liquid-coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub> nanoparticles for the determination of flavonoids in bio-matrix samples coupled with high performance liquid chromatography," *J. Chromatogr. A*, vol. 1324, p. 78–85, 2014.

64. S. Topuz, G. Özhan, and B. Alpertunga, "Simultaneous determination of various pesticides in fruit juices by HPLC-DAD," *Food Control*, vol. 16, no. 1, p. 87–92, 2005.

65. S. Mahpishanian and H. Sereshti, "Three-dimensional graphene aerogel-supported iron oxide nanoparticles as an efficient adsorbent for magnetic solid phase extraction of organophosphorus pesticide residues in fruit juices followed by gas

chromatographic determination,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1443, p. 43–53, 2016.

66. M. Shamsipur, N. Yazdanfar, and M. Ghambarian, “Combination of solid-phase extraction with dispersive liquid–liquid microextraction followed by GC–MS for determination of pesticide residues from water, milk, honey and fruit juice,” *Food Chem.*, vol. 204, p. 289–297, 2016.

67. Z. Huang, P. E. Chua, and H. K. Lee, “Carbonized polydopamine as coating for solid-phase microextraction of organochlorine pesticides,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1399, p. 8–17, 2015.

68. L. Wu et al., “Dynamic microwave-assisted extraction online coupled with single drop microextraction of organophosphorus pesticides in tea samples,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1407, p. 42–51, 2015.

69. Y.-F. Li, L.-Q. Qiao, F.-W. Li, Y. Ding, Z.-J. Yang, and M.-L. Wang, “Determination of multiple pesticides in fruits and vegetables using a modified quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method with magnetic nanoparticles and gas chromatography tandem mass spectrometry,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1361, p. 77–87, 2014.

70. I. Timofeeva, A. Shishov, D. Kanashina, D. Dzema, and A. Bulatov, “On-line in-syringe sugaring-out liquid-liquid extraction coupled with HPLC-MS/MS for the determination of pesticides in fruit and berry juices,” *Talanta*, vol. 167, p. 761–767, 2017.

71. Y. Han et al., “Simultaneous determination of 70 pesticide residues in leek, leaf lettuce and garland chrysanthemum using modified QuEChERS method with multi-walled carbon nanotubes as reversed-dispersive solid-phase extraction materials,” *J. Chromatogr. B*, vol. 1005, p. 56–64, 2015.

72. S. N. Sinha, K. Vasudev, and M. V. V. Rao, “Quantification of organophosphate insecticides and herbicides in vegetable samples using the ‘Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe’(QuEChERS) method and a high-performance liquid chromatography–electrospray ionisation–mass spectrometry (LC–MS/MS) technique,” *Food Chem.*, vol. 132, no. 3, p. 1574–1584, 2012.

73. Y.-B. Jiang, M. Zhong, and Y.-Y. Ma, “The rapid selecting of precursor ions and product ions of thirty-four kinds of pesticide for content determination by GC–EI/MS/MS,” *Food Control*, vol. 43, p. 110–114, 2014.

74. T. De Vijlder, D. Valkenburg, F. Lemièrre, E. P. Romijn, K. Laukens, and F.

Cuyckens, “A tutorial in small molecule identification via electrospray ionization-mass spectrometry: The practical art of structural elucidation,” *Mass Spectrom. Rev.*, vol. 37, no. 5, p. 607–629, 2018.

75. D. P. Elpa, G. R. D. Prabhu, S.-P. Wu, K. S. Tay, and P. L. Urban, “Automation of mass spectrometric detection of analytes and related workflows: A review,” *Talanta*, vol. 208, p. 120304, 2020.

76. H. H. See and N. A. Ali, “Electrophoresis. Capillary Electrophoresis: Principles of Capillary,” P. Worsfold, C. Poole, A. Townshend, and M. B. T.-E. of A. S. (Third E. Miró, Eds. Oxford: Academic Press, p. 328–333, 2019.

77. L. Sánchez-Hernández, D. Hernández-Domínguez, J. Bernal, C. Neusüß, M. T. Martín, and J. L. Bernal, “Capillary electrophoresis–mass spectrometry as a new approach to analyze neonicotinoid insecticides,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1359, p. 317–324, 2014.

78. J. Jiang and C. A. Lucy, “Determination of glyphosate using off-line ion exchange preconcentration and capillary electrophoresis-laser induced fluorescence detection,” *Talanta*, vol. 72, no. 1, p. 113–118, 2007.

79. M. Hernández-Mesa, D. Moreno-González, F. J. Lara, and A. M. García-Campaña, “Electrophoresis | Capillary Electrophoresis: Food Chemistry Applications,” P. Worsfold, C. Poole, A. Townshend, and M. B. T.-E. of A. S. (Third E. Miró, Eds. Oxford: Academic Press, p. 358–366, 2019.

80. A. C. O. Costa, L. da Silva Perfeito, M. F. M. Tavares, and G. A. Micke, “Determination of sorbate and benzoate in beverage samples by capillary electrophoresis—Optimization of the method with inspection of ionic mobilities,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1204, no. 1, p. 123–127, 2008.

81. G. S. Nunes, I. A. Toscano, and D. Barceló, “Analysis of pesticides in food and environmental samples by enzyme-linked immunosorbent assays,” *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 17, no. 2, p. 79–87, 1998.

82. J. Yang et al., “Development of an enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA) method for carbofuran residues,” *Molecules*, vol. 13, no. 4, p. 871–881, 2008.

83. J. Caetano and S. A. S. Machado, “Determination of carbaryl in tomato ‘in natura’ using an amperometric biosensor based on the inhibition of acetylcholinesterase

activity,” *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 129, no. 1, p. 40–46, 2008.

84. S. Thakur, M. V. Reddy, D. Siddavattam, and A. K. Paul, “A fluorescence based assay with pyranine labeled hexa-histidine tagged organophosphorus hydrolase (OPH) for determination of organophosphates,” *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 163, no. 1, p. 153–158, 2012.

85. X. Tan et al., “Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer reduced graphene oxide and gold nanoparticles modified electrode for detection of carbofuran,” *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 220, p. 216–221, 2015.

86. X. H. Lin, S. X. L. Aik, J. Angkasa, Q. Le, K. S. Chooi, and S. F. Y. Li, “Selective and sensitive sensors based on molecularly imprinted poly(vinylidene fluoride) for determination of pesticides and chemical threat agent simulants,” *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 258, p. 228–237, 2018.

87. C. S. Pundir and N. Chauhan, “Acetylcholinesterase inhibition-based biosensors for pesticide determination: A review,” *Anal. Biochem.*, vol. 429, no. 1, p. 19–31, 2012.

88. R. Rial-Otero, E. M. Gaspar, I. Moura, and J. L. Capelo, “Chromatographic-based methods for pesticide determination in honey: An overview,” *Talanta*, vol. 71, no. 2, p. 503–514, 2007.

89. K. Madej, T. K. Kalenik, and W. Piekoszewski, “Sample preparation and determination of pesticides in fat-containing foods,” *Food Chem.*, vol. 269, p. 527–541, 2018.

90. ГОСТ 30349-96. Плоды, овощи и продукты их переработки. Методы определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов, 1998.

91. ГОСТ 30710-2001. Плоды, овощи и продукты их переработки. Методы определения остаточных количеств фосфорорганических пестицидов, 2002.

92. J. Du, H. Yan, D. She, B. Liu, and G. Yang, “Simultaneous determination of cypermethrin and permethrin in pear juice by ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography,” *Talanta*, vol. 82, no. 2, p. 698–703, 2010.

93. G. Peng et al., “Vortex-assisted liquid-liquid microextraction using a low-toxicity solvent for the determination of five organophosphorus pesticides in water samples

by high-performance liquid chromatography,” *J. Sep. Sci.*, vol. 38, no. 20, p. 3487–3493, 2015.

94. Q. Ren and T. Xia, “Application of dispersive liquid–liquid microextraction for the analysis of organophosphorus pesticides in Hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. *major*) juice samples,” *Acta Chromatogr.*, vol. 28, no. 3, p. 403–414, 2016.

95. Y. Liu, Z. Gao, R. Wu, Z. Wang, X. Chen, and T.-W. D. Chan, “Magnetic porous carbon derived from a bimetallic metal–organic framework for magnetic solid-phase extraction of organochlorine pesticides from drinking and environmental water samples,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1479, p. 55–61, 2017.

96. A. Juan Garcia, G. Font, and Y. Pico, “Quantitative Analysis of Six Pesticides in Fruits by Capillary Electrophoresis-Electrospray-Mass Spectrometry,” *Electrophoresis*, vol. 26, p. 1550–1561, 2005.

97. L. Xie et al., “Amine-functionalized MIL-53 (Al)-coated stainless steel fiber for efficient solid-phase microextraction of synthetic musks and organochlorine pesticides in water samples,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 409, no. 22, p. 5239–5247, 2017.

98. M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Štajnbaher, and F. J. Schenck, “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.*, vol. 86, no. 2, p. 412–431, 2003.

99. Y. Huang et al., “Determination of multi-pesticide residues in green tea with a modified QuEChERS protocol coupled to HPLC-MS/MS,” *Food Chem.*, vol. 275, p. 255–264, 2019.

100. S. Li et al., “Analysis of pesticide residues in commercially available chenpi using a modified QuEChERS method and GC-MS/MS determination,” *J. Pharm. Anal.*, 2019.

101. X. Mao, Y. Wan, Z. Li, L. Chen, H. Lew, and H. Yang, “Analysis of organophosphorus and pyrethroid pesticides in organic and conventional vegetables using QuEChERS combined with dispersive liquid-liquid microextraction based on the solidification of floating organic droplet,” *Food Chem.*, vol. 309, p. 125755, 2020.

102. C. F. Amate, H. Unterluggauer, R. J. Fischer, A. R. Fernández-Alba, and S. Masselter, “Development and validation of a LC–MS/MS method for the simultaneous

determination of aflatoxins, dyes and pesticides in spices,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 397, no. 1, p. 93–107, 2010.

103. S. C. Mandal, V. Mandal, and A. K. Das, “Chapter 6 - Classification of Extraction Methods,” S. C. Mandal, V. Mandal, and A. K. B. T.-E. of B. E. Das, Eds. Boston: Academic Press, p. 83–136, 2015.

104. A. Damascelli, “Microextraction methods in food sample preparation,” in *New Trends in Sample Preparation Techniques for Food Analysis*, p. 127–173, 2016.

105. B. Hashemi, P. Zohrabi, K.-H. Kim, M. Shamsipur, A. Deep, and J. Hong, “Recent advances in liquid-phase microextraction techniques for the analysis of environmental pollutants,” *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 97, p. 83–95, 2017.

106. S. M. Majedi and H. K. Lee, “Microextraction and Solventless Techniques,” in *The Application of Green Solvents in Separation Processes*, p. 415–450, 2017.

107. M. Johansson, *Dispersive liquid-liquid microextraction in the analysis of harmful organic compounds from environmental samples*. 2013.

108. M. Nasiri, H. Ahmadzadeh, and A. Amiri, “Sample preparation and extraction methods for pesticides in aquatic environments: A review,” *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 123, p. 115772, 2020.

109. P. Parrilla Vázquez, C. Ferrer, M. J. Martínez Bueno, and A. R. Fernández-Alba, “Pesticide residues in spices and herbs: Sample preparation methods and determination by chromatographic techniques,” *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 115, p. 13–22, 2019.

110. A. Wilkowska and M. Biziuk, “Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology,” *Food Chem.*, vol. 125, no. 3, p. 803–812, 2011.

111. P. Samaddar and K. Sen, “Cloud point extraction: A sustainable method of elemental preconcentration and speciation,” *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 20, no. 4, p. 1209–1219, 2014.

112. E. K. Paleologos, D. L. Giokas, and M. I. Karayannis, “Micelle-mediated separation and cloud-point extraction,” *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 24, no. 5, p. 426–436, 2005.

113. Y. Yamini, N. Feizi, and M. Moradi, “Chapter 7 - Surfactant-Based Extraction

Systems,” in *Handbooks in Separation Science*, C. F. B. T.-L.-P. E. Poole, Ed. Elsevier, p. 209–239, 2020.

114. A. S. Yazdi, “Surfactant-based extraction methods,” *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 30, no. 6, p. 918–929, 2011.

115. W. Zhao, X. Sun, X. Deng, L. Huang, M. Yang, and Z. Zhou, “Cloud point extraction coupled with ultrasonic-assisted back-extraction for the determination of organophosphorus pesticides in concentrated fruit juice by gas chromatography with flame photometric detection,” *Food Chem.*, vol. 127, no. 2, p. 683–688, 2011.

116. C. Padrón Sanz, R. Halko, Z. Sosa Ferrera, and J. J. Santana Rodríguez, “Micellar extraction of organophosphorus pesticides and their determination by liquid chromatography,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 524, no. 1, p. 265–270, 2004.

117. J. Zhou, J. Chen, Y. Cheng, D. Li, F. Hu, and H. Li, “Determination of Prometryne in water and soil by HPLC–UV using cloud-point extraction,” *Talanta*, vol. 79, no. 2, p. 189–193, 2009.

118. A. Santalad, S. Srijaranai, R. Burakham, T. Sakai, and R. L. Deming, “Acid-induced cloud-point extraction coupled to spectrophotometry for the determination of carbaryl residues in waters and vegetables,” *Microchem. J.*, vol. 90, no. 1, p. 50–55, 2008.

119. M. R. Sohrabi, S. Jamshidi, and A. Esmailifar, “Cloud point extraction for determination of Diazinon: Optimization of the effective parameters using Taguchi method,” *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, vol. 110, no. 1, p. 49–54, 2012.

120. K. Seebunrueng, Y. Santaladchaiyakit, and S. Srijaranai, “Study on the effect of chain-length compatibility of mixed anionic-cationic surfactants on the cloud-point extraction of selected organophosphorus pesticides,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 404, no. 5, p. 1539–1548, 2012.

121. K. Seebunrueng, Y. Santaladchaiyakit, P. Soisungnoen, and S. Srijaranai, “Catanionic surfactant ambient cloud point extraction and high-performance liquid chromatography for simultaneous analysis of organophosphorus pesticide residues in water and fruit juice samples,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 401, no. 5, p. 1707–1716, 2011.

122. E. Carasek, J. Merib, G. Mafra, and D. Spudeit, “A recent overview of the application of liquid-phase microextraction to the determination of organic micro-pollutants,” *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 108, p. 203–209, 2018.

123. T. Liu et al., "Determination of triazine herbicides in milk by cloud point extraction and high-performance liquid chromatography," *Food Chem.*, vol. 142, p. 358–364, 2014.
124. H. Zhu, W. Liu, J. Mao, and M. Yang, "Cloud point extraction and determination of trace trichlorfon by high performance liquid chromatography with ultraviolet-detection based on its catalytic effect on benzidine oxidizing," *Anal. Chim. Acta*, vol. 614, no. 1, p. 58–62, 2008.
125. T. Tang, K. Qian, T. Shi, F. Wang, J. Li, and Y. Cao, "Determination of triazole fungicides in environmental water samples by high performance liquid chromatography with cloud point extraction using polyethylene glycol 600 monooleate," *Anal. Chim. Acta*, vol. 680, no. 1, p. 26–31, 2010.
126. G. Jia, C. Lv, W. Zhu, J. Qiu, X. Wang, and Z. Zhou, "Applicability of cloud point extraction coupled with microwave-assisted back-extraction to the determination of organophosphorous pesticides in human urine by gas chromatography with flame photometry detection," *J. Hazard. Mater.*, vol. 159, no. 2, p. 300–305, 2008.
127. M. Á. González-Curbelo, A. V Herrera-Herrera, L. M. Ravelo-Pérez, and J. Hernández-Borges, "Sample-preparation methods for pesticide-residue analysis in cereals and derivatives," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 38, p. 32–51, 2012.
128. K. Cherkashina et al., "An automated salting-out assisted liquid-liquid microextraction approach using 1-octylamine: On-line separation of tetracycline in urine samples followed by HPLC-UV determination," *Talanta*, vol. 184, p. 122–127, 2018.
129. B. Albero, C. Sánchez-Brunete, and J. L. Tadeo, "Multiresidue determination of pesticides in juice by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry," *Talanta*, vol. 66, no. 4, p. 917–924, 2005.
130. A. Alshishani, S. M. Salhimi, and B. Saad, "Salting-out assisted liquid-liquid extraction coupled with hydrophilic interaction chromatography for the determination of biguanides in biological and environmental samples," *J. Chromatogr. B*, vol. 1073, p. 51–59, 2018.
131. M. Gupta and A. Dsouza, "Salting-out homogeneous liquid-liquid microextraction for the spectrophotometric determination of iodate in food grade salt," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 87, p. 103396, 2020.

132. J. Stetefeld, S. A. McKenna, and T. R. Patel, "Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences," *Biophys. Rev.*, vol. 8, no. 4, p. 409–427, 2016.
133. K. Krynicky, C. D. Green, and D. W. Sawyer, "Pressure and temperature dependence of self-diffusion in water," *Faraday Discuss. Chem. Soc.*, vol. 66, p. 199–208, 1978.
134. C. L. Yaws, *Transport properties of chemicals and hydrocarbons*. William Andrew, 2014.
135. N. H. Sagert, M. J. Quinn, and R. S. Dixon, "The transfer of alkanolic acids from dodecane to water," *Can. J. Chem.*, vol. 59, no. 7, p. 1096–1100, 1981.
136. N. L. T. Padivitage, J. P. Smuts, and D. W. Armstrong, "Chapter 11 - Water determination," C. M. Riley, T. W. Rosanske, and S. R. R. B. T.-S. of D. S. and P. Riley, Eds. Oxford: Elsevier, p. 223–241, 2014.
137. European Food Safety Authority. Scientific support for preparing an EU position in the 43rd Session of the Codex Committee on Pesticide Residues (CCPR) //EFSA Journal, vol. 9, no. 9, p. 2360, 2011.
138. M. A. Farajzadeh and L. Khoshmaram, "Air-assisted liquid-liquid microextraction-gas chromatography-flame ionisation detection: A fast and simple method for the assessment of triazole pesticides residues in surface water, cucumber, tomato and grape juices samples," *Food Chem.*, vol. 141, no. 3, p. 1881–1887, 2013.