



Изучение возможности определения остаточных количеств действующих веществ пестицидов в образцах промышленной конопли (*Cannabis sativa L.*) с использованием квадрупольного масс-детектора «Maestro-αMS»

**Колунтаев Д. А.** к. б. н., научный сотрудник  
отдела исследований и разработок,  
ООО Интерлаб, Россия, Москва

#### **Ключевые слова**

Газовая хромато-масс-спектрометрия, пестициды, промышленная конопля, iDwell® Time, SIM Wizard®, SIM, QuEChERS, ТФЭ

#### **Резюме**

Продemonстрированы возможности хромато-масс-спектрометрической системы Маэстро-αМС на примере определения остаточных количеств действующих веществ пестицидов в образцах промышленной конопли.

Существует несколько целей культивации, или выращивания конопли. В промышленности конопля используется как сырьё в медицинской, топливной, текстильной, лёгкой (конопляное масло), бумажной, строительной и других отраслях, а также для производства грубого растительного волокна [1]. Такого рода промышленная конопля содержит низкий процент психоактивного вещества тетрагидроканнабинола, в отличие от конопли, культивируемой для нелегальных целей, а именно курения марихуаны.

Стоит отметить, что за последние 10 лет рынок конопли существенно изменился и перешёл из подпольного бизнеса на «чёрном рынке» в легальную индустрию. Толчком для такого развития послужило разрешение в некоторых странах использования конопли в медицинских целях, в частности, для лечения установленного законом круга заболеваний или купирования их симптомов. Легализация использования конопли повлекла за собой выработку регламентирующих требований в области качества и безопасности данного вида продукции, где одним из пунктов является определение следовых количеств действующих веществ пестицидов в растительном сырье с помощью методов жидкостной и газовой масс-спектрометрии.

Конопля является довольно сложным объектом для исследования, так как содержит многочисленные высококонцентрированные фоновые компоненты, мешающие надёжному детектированию целевых соединений в органическом экстракте. Это является основной проблемой и при тестировании образцов конопли на присутствие остаточных количеств пестицидов (особенно на уровне следовых количеств). Существенная разница концентраций остаточных количеств действующих веществ пестицидов и со-экстрагированных концентраций каннабиноидов и терпенов усложняют выполнение теста, вводя дополнительные матричные эффекты, которые приводят не только к снижению чувствительности инструментального метода, но и к необходимости более частого технического обслуживания системы, ведущего к увеличению времени простоя прибора. Следовательно, «ключом» к успешному анализу следовых количеств пестицидов в образцах конопли является надёжное снижение матричной нагрузки на масс-спектр. Для этого должны проводиться дополнительные исследования оптимальных подходов подготовки пробы к масс-спектрометрическому анализу для снижения матричной нагрузки на спектр искомым соединений. Снижение количества потенциально мешающих изобар позволит специалистам добиться стабильной работы масс-детектора, увеличить производительность метода и тем самым повысить пропускную способность работы лаборатории, сокращая тем самым времена простоя систем ради технического обслуживания и ремонта.

В настоящей статье продемонстрирована возможность применения мультикомпонентного метода пробоподготовки QuEChERS с использованием набора VetexQ (Интерлаб). Также для решения поставленной задачи контроля образцов предложена дополнительная стадия очистки пробы классическим методом твёрдофазной экстракции с последующим детектированием следовых количеств пестицидов высокочувствительным масс-детектором Maestro-αMS.

## **Экспериментальная часть**

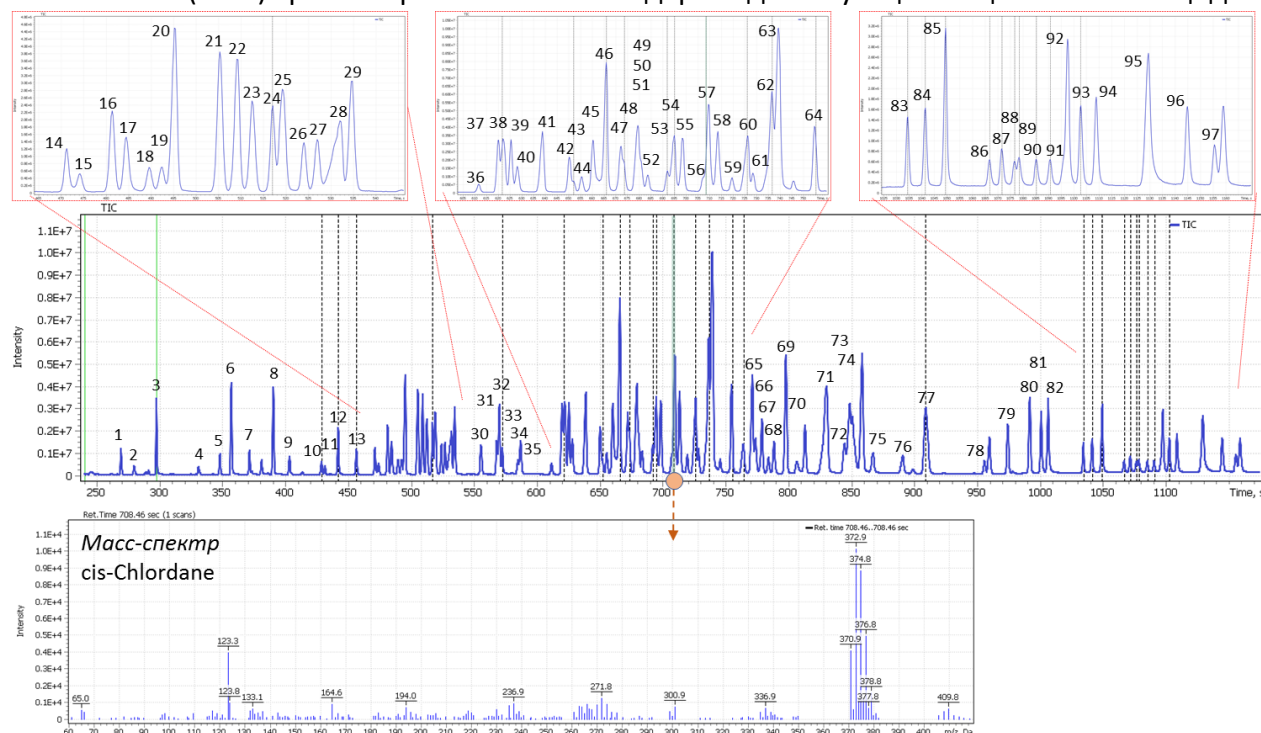
### Материалы и методы

Все используемые в исследовании реагенты имеют классификацию, как особо чистые или HPLC grade. Стандарты действующих веществ пестицидов были приобретены в компании Restek (США), в частности: GC Multiresidue Pesticide Standard #6 (Restek 32568); GC Multiresidue

Pesticide Standard #5 (Restek 32567); GC Multiresidue Pesticide Standard #2 (Restek 32564); GC Multiresidue Pesticide Standard #3 (Restek 32565); 8140/8141 OP Pesticide Calibration Mix A (Restek 32277); в качестве внутреннего стандарта использовали 4-хлордифенил эфир (Calibration Mix #3; Restek 31620).

Параметры инструментального метода представлены в таблице 1. Хроматограмма сканирования смеси стандартов действующих веществ (98 пестицидов) представлена на рисунке 1.

**Рис. 1.** ГХ-МС (Scan) хроматограмма смеси стандартов действующих веществ 98 пестицидов.



1-Methane, bis(2-chloroethoxy)-; 2-1,3,5-Trichlorobenzebe; 3-Dichlorvos; 4-1,2,4,5-Tetrachlorobenzebe; 5-Naphthalene, 6-2-chloro-; 7-Mevinphos; 8-Etridiazole; 9-Cloroneb; 10-Benzene, pentachloro-; 11-Benzene, 1-chloro-4-phenoxy-; 12-Demeton-O; 13-Ethoprophos; 14-Naled; 15-Phorate; 16-Benzene, 1-bromo-4-phenoxy- (ISTD); 17-HCH isomer I; 18-Demeton-S; 19-Benzene, hexachloro- (HCB); 20-2,3,4,5,6-pentachloro anisole; 21-Atrazine; 22-HCH isomer II; 23-Terbuthylazine; 24-HCH isomer III; 25-Diazinone; 26-Pyrimethanil; 27-Tefluthrin; 28-Disulfoton; 29-Terbacil; 30-HCH isomer IV; 31-Endosulfan ether; 32-Transfluthrin; 33-Vinclozoline; 34-Parathion-methyl; 35-Heptachlor; 36-Fenchlorphos; 37-Pentachlorothioanisole; 38-Fenthione; 39-9,10-Anthracenedione; 40-Triadimefon; 41-4,4-Dichlorobenzophenone; 42-Trichloronate; 43-Cyprodinil; 44-MGK 264; 45-Isodrine; 46-Penconazole; 47-Fipronil; 48-Triadimenol; 49-Captan; 50-Triflumizole; 51-Procymidone; 52-Folpet; 53-Chlorbenside; 54-trans-Chlordane; 55-Paclobutrazol; 56-Tetrachlorvinphos; 57-Endosulfan; 58-Flutriafol; 59-Ovex; 60-Prothiofos; 61-Fludioxonil; 62-p,p'-DDE; 63-Myclobutanil; 64-Flusilazole; 65-Chlorfenapyr; 66-Fensulfothion; 67-beta-Endosulfan; 68-p,p'-DDD; 69-trans-Nonachlor; 70-Endrin aldehyde; 71-Clordecone; 72-Endosulfan sulfate; 73-o,p'-Methoxychlor; 74-Hexazinone; 75-Tebuconazole; 76-Captafol; 77-Iprodione; 78-Bifenthrine; 79-Phenothrine; 80-Pyriproxyfen; 81-lambda-Cyhalothrin; 82-Acrinathrin; 83-Fenarimol; 84-Permethrin isomer I; 85-Permethrin isomer II; 86-Coumaphos; 87-Cyfluthrine isomer I; 88-Cyfluthrine isomer II; 89-Cyfluthrine isomer III; 90-Cyfluthrine isomer IV; 91-Cypermethrine isomer I; 92-Cypermethrine isomer II; 93-Flucythrinate isomer I; 94-Etofenprox; 95-Flucythrinate isomer II; 96-Fluridone; 97-Fenvalerate; 98-Fluvalinate.

**Табл. 1.** Параметры инструментального метода.

| <b>Инструментарий</b>      |                                                   |
|----------------------------|---------------------------------------------------|
| ГХ-МС система              | Maestro-αMS                                       |
| Испаритель                 | Split/Splitless (liner: Restek 4 mm x 6.3 x 78.5) |
| Хроматографическая колонка | Restek Rtx-5MS<br>(30m x 0.25mm; 250um)           |

| <b>Условия хроматографического разделения</b>          |                                                                                                                                                         |
|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Объём пробы                                            | 1 мкл                                                                                                                                                   |
| Соотношение деления пробы                              | Splitless; Purge 70 мл/мин после 0,7 мин                                                                                                                |
| $t^\circ$ испарителя                                   | 240°C                                                                                                                                                   |
| Режим тока газа-носителя                               | Режим Constant flow                                                                                                                                     |
| Градиент $t^\circ$ печи                                | 80°C в течение 0,7 мин;<br>30,0°C/мин до 180°C, удержание 0,0 мин;<br>9,0°C/мин до 250°C, удержание 3,0 мин;<br>30,0°C/мин до 305°C, удержание 2,5 мин; |
| Тип и скорость газа-носителя                           | (He) 1,0 мл/мин                                                                                                                                         |
| $t^\circ$ интерфейса МС                                | 270°C                                                                                                                                                   |
| <b>Условия масс-спектрометрического детектирования</b> |                                                                                                                                                         |
| Источник ионизации                                     | ЭИ (EI)                                                                                                                                                 |
| $t^\circ$ источника                                    | 240°C                                                                                                                                                   |
| Задержка растворителя                                  | 300 сек                                                                                                                                                 |
| Режимы сканирования                                    | SCAN 50 – 500 Da (2000 Da/sec)<br>SIM (см. табл 2)                                                                                                      |
| Параметр Dwell Time                                    | Режим iDwell® Time $\approx$ 20 мсек                                                                                                                    |

Разработку инструментального метода целевого анализа искоемых соединений выполняли на основе полученных экспериментальных данных разделения стандартной смеси пестицидов в режиме сканирования с концентрацией свыше 1 ppm для каждого соединения. Возможность получения чистых масс-спектров действующих веществ пестицидов позволила корректно использовать алгоритм автоматического построения SIM эксперимента - *SIM Wizard*®.

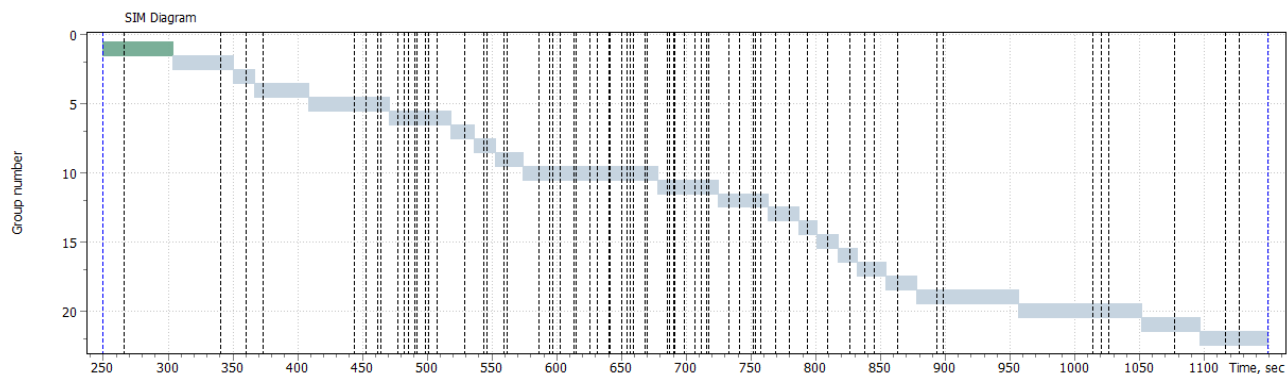
Алгоритм *SIM Wizard*® является интеллектуальным помощником при формировании высокочувствительного метода сканирования выделенных целевых ионов (SIM). В частности, алгоритм работает в 2 этапа. На первом этапе выполняется комплекс процедур, которые включают в себя автоматическое интегрирование профиля SCAN-эксперимента, процедуру выделения присутствующих целевых компонентов на этом профиле и формирование таблицы чистых спектров всех детектированных компонентов смеси с предложенным перечнем целевых ионов.

Второй этап работы алгоритма *SIM Wizard*® представляет собой формирование непосредственно инструментального метода SIM эксперимента с использованием механизма автоматического расчёта времени сканирования каждого иона целевого соединения (iDwell®Time). Подобный механизм полностью автоматизирован и выполняет сегментирование хроматограммы на временные отрезки для сканирования в каждом сегменте наименьшего числа целевых ионов (рис. 2). Такой подход позволяет использовать большой ресурс времени для сканирования каждого иона и тем самым достигать максимальной чувствительности инструментального метода к искомым соединениям. Параметры сканирования целевых ионов представлены в таблице 2.

**Табл. 2. Параметры сканирования искоемых соединений.**

| №  | Действующее<br>вещество          | Quantifier<br>ион | Qualifier<br>ион | №  | Действующее<br>вещество                | Quantifier<br>ион | Qualifier<br>ион |
|----|----------------------------------|-------------------|------------------|----|----------------------------------------|-------------------|------------------|
| 1  | Dichlorvos                       | 184.9             | 144.9            | 38 | Endosulfan I                           | 277               | 306.9            |
| 2  | Etridiazole                      | 211               | 247.9            | 39 | trans-Chlordane                        | 374.9             | 370.9            |
| 3  | Chloroneb                        | 113               | 253              | 40 | Ovex                                   | 174.9             | 301.9            |
| 4  | Pentachlorobenzene               | 249.9             | 247.9            | 41 | cis-Nonachlor                          | 408.8             | 410.8            |
| 5  | Phorate                          | 75.1              | 260              | 42 | Prothiofos                             | 308.9             | 162              |
| 6  | alpha-BHC                        | 182.9             | 217              | 43 | 2,4'-DDE                               | 246               | 317.9            |
| 7  | Hexachlorobenzene                | 285.8             | 287.8            | 44 | Dieldrin                               | 278.9             | 263              |
| 8  | Pentachloroanisole               | 264.8             | 279.9            | 45 | 4,4'-DDD                               | 235               | 199.1            |
| 9  | beta-BHC                         | 182.9             | 217              | 46 | Bupirimate                             | 273               | 316.1            |
| 10 | delta-BHC                        | 182.9             | 217              | 47 | Perthane                               | 223.1             | 224.1            |
| 11 | Terbutylazine                    | 214.1             | 173              | 48 | Chlorfenapyr                           | 58.9              | 247.1            |
| 12 | Pyrimethanil                     | 199.1             | 198.1            | 49 | Endrin                                 | 262.9             | 260.9            |
| 13 | Diazinon                         | 303.9             | 276              | 50 | Endosulfan II                          | 194.9             | 228.9            |
| 14 | Disulfoton                       | 88                | 273.9            | 51 | 2,4'-DDD                               | 235               | 237              |
| 15 | gamma-BHC (Lindane)              | 217               | 182.9            | 52 | 4,4'-DDT                               | 235               | 237              |
| 16 | Tefluthrin                       | 197               | 177              | 53 | trans-Nonachlor                        | 408.8             | 410.8            |
| 17 | Endosulfan ether                 | 306.8             | 276.9            | 54 | Sulprofos                              | 321.9             | 140.1            |
| 18 | Vinclozolin                      | 212               | 284.9            | 55 | 4,4'-Methoxychlor<br>olefin            | 307.9             | 238              |
| 19 | Methyl Parathion                 | 263               | 247              | 56 | Endosulfan sulfate                     | 423.9             | 276.1            |
| 20 | Heptachlor                       | 271.8             | 273.8            | 57 | 2,4'-DDT                               | 121               | 227.1            |
| 21 | Fenchlorphos                     | 284.9             | 286.9            | 58 | Propargite                             | 350.1             | 173.1            |
| 22 | Pentachlorothioanisole           | 295.9             | 245.9            | 59 | Benzene,1-chloro-<br>4-phenoxy- (ISTD) | 204.1             | 141.1            |
| 23 | Fenthion                         | 278               | 245              | 60 | Resmethrin                             | 123.1             | 171.1            |
| 24 | Chlorpyrifos                     | 313.9             | 315.9            | 61 | Endrin ketone                          | 318.9             | 316.9            |
| 25 | 4,4'-<br>Dichlorobenzophenone    | 139               | 250              | 62 | Bifenthrin                             | 181.1             | 166.1            |
| 26 | Trichloronate                    | 296.9             | 270.9            | 63 | cis-Permethrin                         | 183               | 184              |
| 27 | MGK-264                          | 164               | 112              | 64 | trans-Permethrin                       | 183               | 184              |
| 28 | Isodrin                          | 262.9             | 363.9            | 65 | Coumaphos                              | 362.1             | 364.1            |
| 29 | Heptachlor epoxide<br>(Isomer B) | 352.9             | 350.9            | 66 | Etofenprox                             | 163.1             | 376.2            |
| 30 | Fipronil                         | 366.9             | 368.9            | 67 | Fenvalerate                            | 167               | 419.1            |
| 31 | Triadimenol                      | 168.1             | 112              | 68 | tau-Fluvalinate                        | 250               | 252              |
| 32 | Folpet                           | 260               | 104.1            | 69 | Cyfluthrine                            | 199.0             | 227.0            |
| 33 | Procymidone                      | 282.9             | 284.9            | 70 | Cypermethrine                          | 181.1             | 163.0            |
| 34 | Chlorbenside                     | 125               | 127              | 71 | Naled                                  | 145.0             | 184.9            |
| 35 | cis-Chlordane                    | 374.8             | 372.8            | 72 | Captan                                 | 114.1             | 79.1             |
| 36 | 4,4'-DDE                         | 246               | 317.9            | 73 | Paclobutazol                           | 236.1             | 125.1            |
| 37 | Myclobutanil                     | 179.0             | 125.1            |    |                                        |                   |                  |

**Рис. 2.** Диаграмма сегментной работы ГХ-МС в режиме *SIM* сканирования (22 сегмента).



### Пробоподготовка

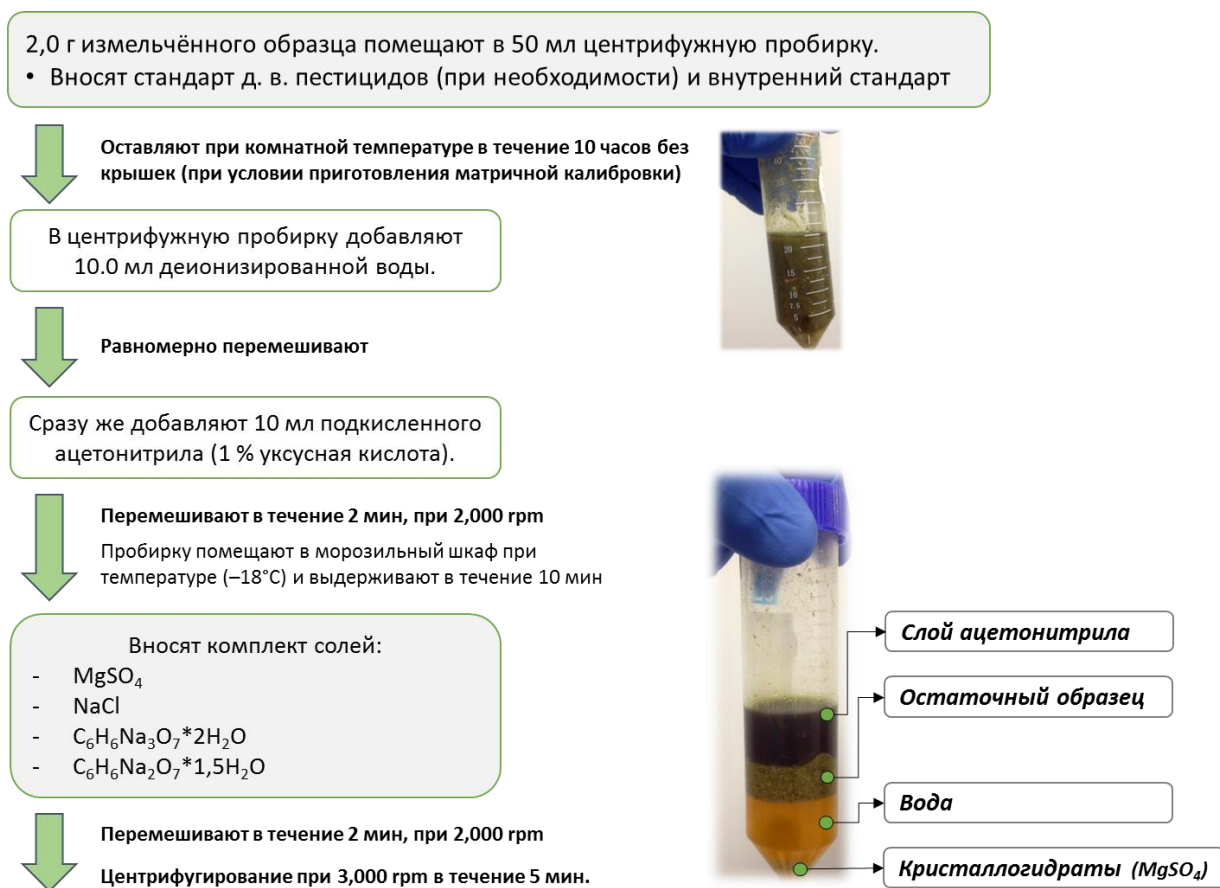
В качестве объекта исследования был использован экстракт промышленной конопли. Как уже ранее было сказано, подобный объект является сложной и комплексной растительной матрицей с высоким содержанием соэкстрактивных веществ. Соцветия и листья конопли содержат свыше 60 различных каннабиноидов, и присутствуют они, как правило, в виде их кислотных аналогов, содержащих карбокси-группу в положении «2» фенольной части молекулы. По мере развития и созревания растения в нём преобладают каннабидиолы (КБД), тетрагидроканнабинолы (ТГК), а по мере старения и отмирания растения, а также в препаратах, приготовленных из растительного материала тетрагидроканнабинол превращается в каннабинол (КБН). Подобный набор сопутствующих соединений матрицы выражается проблемой извлечения остаточных количеств пестицидов из конопли. При этом концентрация сопутствующих соединений будет напрямую зависеть от разнообразия видов и форм конечного получаемого продукта, а также способа культивирования растения. Все перечисленные выше проблемы влияют на чистоту выполнения масс-спектрометрического эксперимента, а также на степень извлечения целевых соединений из пробы, чувствительность метода и его стабильность.

В связи с вышеизложенным, одной из задач эксперимента было также изучение и поиск оптимального способа очистки экстракта конопли, с целью чистой фиксации ионных пиков искоемых веществ в конечном экстракте.

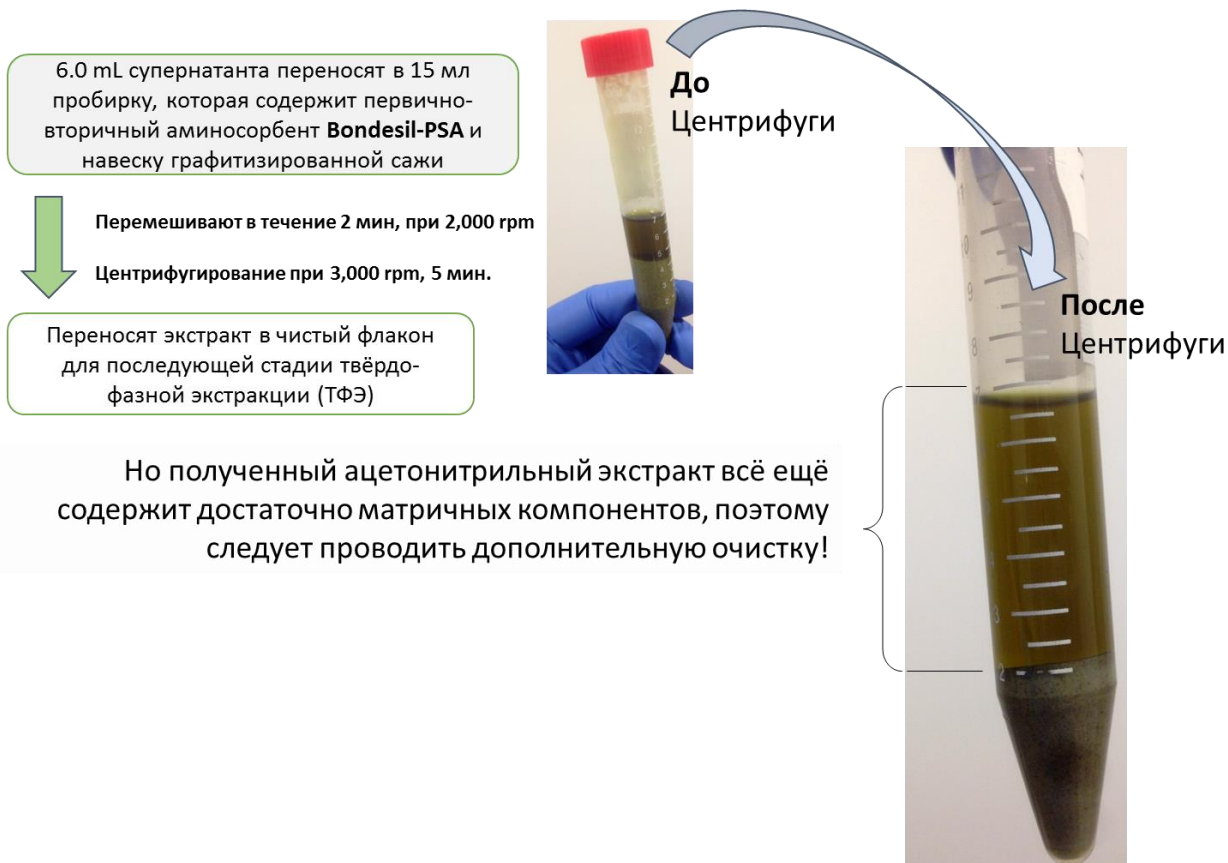
На первом этапе пробоподготовки использовали классический метод экстракции QuEChERS [2], который основан на извлечении растворителем действующих веществ пестицидов из высушенного образца конопли с одновременной очисткой экстракта смесью солей и ионообменным сорбентом Bondesil-PSA в присутствии графитизированной сажи (рис. 3 и рис. 4). Использование только метода QuEChERS недостаточно, для получения чистого экстракта. Даже после стадии очистки первично-вторичным аминсорбентом экстракт был по-прежнему насыщен высоко концентрированными мешающими компонентами и требовал дополнительной стадии очистки (рис. 6).



**Рис. 3.** Стадия экстракции методом QuEChERS.



**Рис. 4.** Стадия очистки сильно пигментированного экстракта методом QuEChERS.



В роли дополнительной стадии очистки было предложено использовать специально подготовленные патроны с классическим обращённо-фазным материалом (силикагель с октадецильной группой - C18).

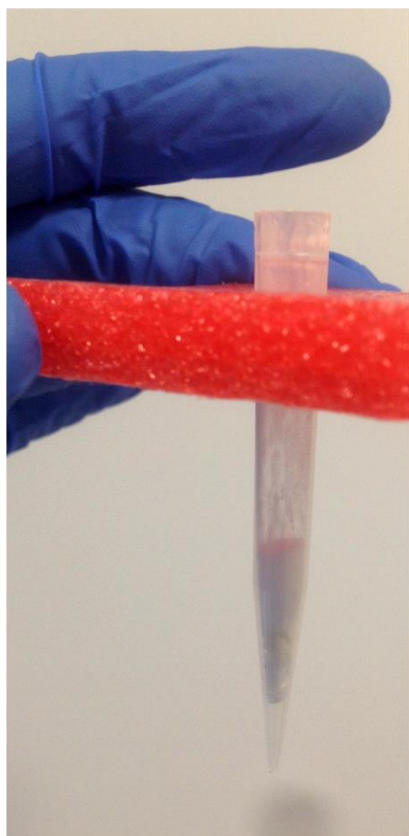
Перед выполнением процедуры очистки и элюирования пробы к 500 мкл ацетонитрильного экстракта добавляли 500 мкл деионизированной воды. Далее очистку пробы выполняли по следующей схеме (рис. 5):

- 1) **Стадия кондиционирования сорбента.** Химическую активацию твёрдого сорбента проводили раствором 30% ACN и 70% вода. Элюат отбрасывали.
- 2) **Загрузка образца.** 1,0 мл образца вносили на сорбент. Элюат отбрасывали.
- 3) **Стадия промывки.** Промывку пробы проводили раствором 20% ACN и 80% вода. Элюат отбрасывали.
- 4) **Стадия элюирования искоемых соединений.** В качестве элюирующей жидкости использовали 500 мкл ацетонитрила. Элюат собирали во флакон для ГХ-МС.

**Рис. 5.** Схема твёрдофазной очистки ацетонитрильного экстракта после извлечения пестицидов методом QuEChERS.

#### а). Предварительное разбавление пробы

К 500 мкл ацетонитрильного экстракта добавляют 500 мкл деионизированной воды



#### б). Очистка и элюирование пробы

##### 1). Стадия кондиционирования сорбента.

Химическую активацию твёрдого сорбента проводят раствором 30% ACN и 70% вода. Элюат отбрасывают.

##### 2). Загрузка образца.

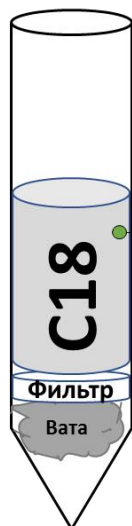
1 мл образца вносят на сорбент. Элюат отбрасывают

##### 3). Стадия промывки.

Промывку пробы проводят раствором 20% ACN и 80% вода. Элюат отбрасывают

##### 4). Стадия элюирования искоемых соединений.

В качестве элюирующей жидкости используют 500 мкл ацетонитрила. Элюат собирают во флакон для ГХ-МС.



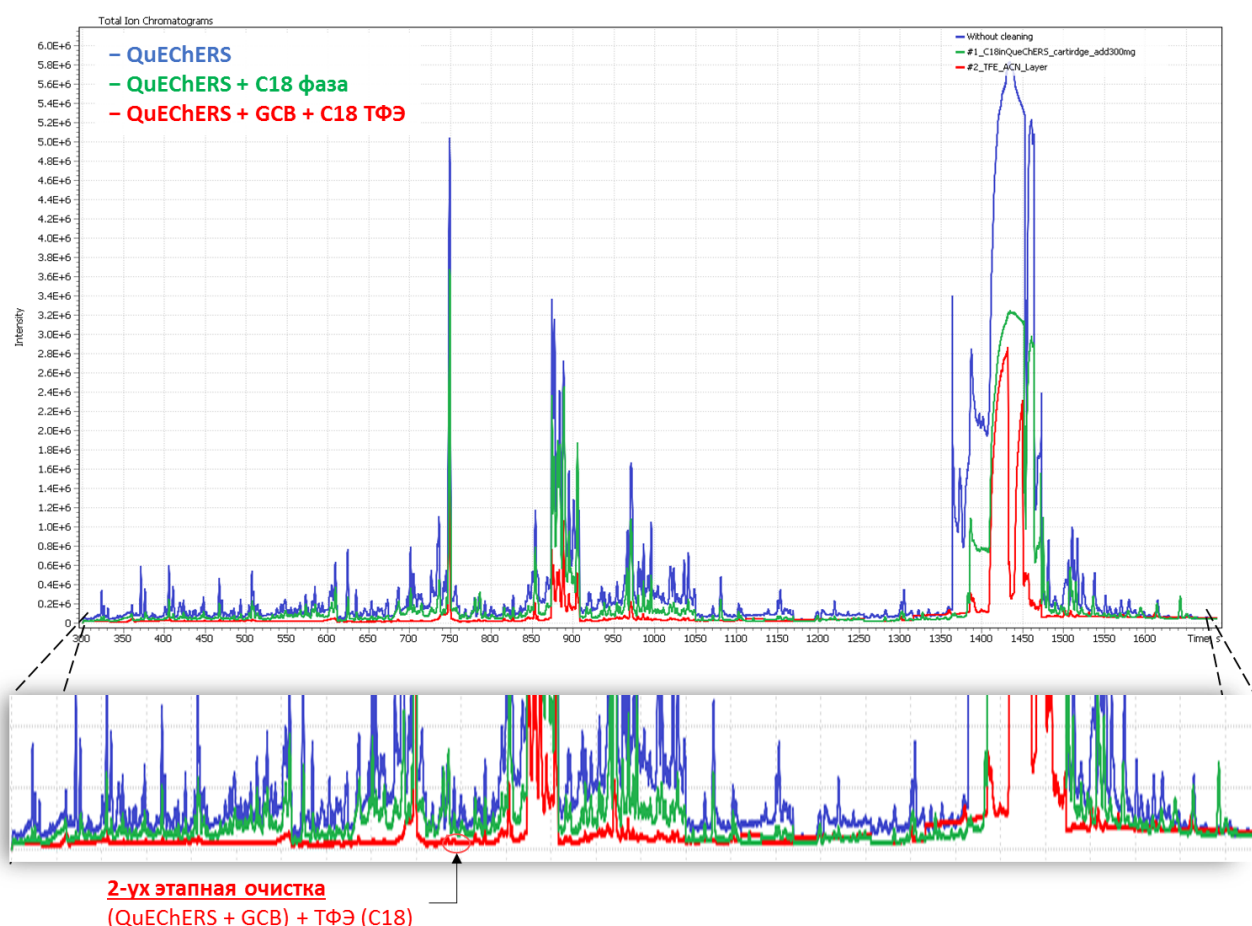
**C18 (0.17 г / 1 мл образца)**

*Примечание: Возможно использование также и стандартных картриджей для ТФЭ очистки 0.5 г (C18) для 3 мл экстракта.*

На рисунке 6 представлены данные сравнения различных режимов очистки пробы. Можно заметить, что уровень сигнала матричных компонентов после твёрдофазной очистки довольно сильно упал. Такой метод пробоподготовки был принят, как оптимальный, и все последующие работы выполнялись с экстрактами, очищенными двухстадийным методом.



**Рис. 6.** Сравнение различных способов очистки экстракта конопли.



Далее чистые экстракты матрицы использовали для внесения смеси 73 действующих веществ пестицидов с концентрациями 20 ppb; 50 ppb; 100 ppb; 200 ppb с целью построения калибровочной зависимости действующих веществ пестицидов на фоне матрицы (матричная калибровка).

## Результаты и обсуждение

### Линейность

Апробация инструментального метода и изучение уровней количественного определения действующих веществ пестицидов в матрице конопли проводили методом матричной калибровки с использованием внутреннего стандарта 4-хлордифенил эфир (с концентрацией 0,1 ppm). Все необходимые расчёты были выполнены согласно утверждённой Европейской ACAS директиве [3]. Полученные данные представлены в таблице 3.

**Табл. 3.** Пределы обнаружения и степени извлечения исследуемых соединений.

| № | Действующее вещество | R <sup>2</sup> | Надёжно детектируемая концентрация, ppm | Quantifier ион | Qualifier ион |
|---|----------------------|----------------|-----------------------------------------|----------------|---------------|
| 1 | Dichlorvos           | 0.995          | 0.1                                     | 184.9          | 144.9         |
| 2 | Etridiazole          | 0.993          | 0.02                                    | 211            | 247.9         |
| 3 | Chloroneb            | 0.994          | 0.02                                    | 113            | 253           |
| 4 | Pentachlorobenzene   | 0.990          | 0.02                                    | 249.9          | 247.9         |

|    |                           |       |      |       |       |
|----|---------------------------|-------|------|-------|-------|
| 5  | Phorate                   | 0.992 | 0.02 | 75.1  | 260   |
| 6  | alpha-BHC                 | 0.988 | 0.02 | 182.9 | 217   |
|    | beta-BHC                  | 0.991 | 0.02 | 182.9 | 217   |
|    | delta-BHC                 | 0.986 | 0.02 | 182.9 | 217   |
|    | gamma-BHC (Lindane)       | 0.995 | 0.02 | 217   | 182.9 |
| 7  | Hexachlorobenzene         | 0.993 | 0.02 | 285.8 | 287.8 |
| 8  | Pentachloroanisole        | 0.992 | 0.02 | 264.8 | 279.9 |
| 9  | Terbuthylazine            | 0.996 | 0.02 | 214.1 | 173   |
| 10 | Pyrimethanil              | 0.992 | 0.02 | 199.1 | 198.1 |
| 11 | Diazinon                  | 0.988 | 0.02 | 303.9 | 276   |
| 12 | Disulfoton                | 0.987 | 0.02 | 88    | 273.9 |
| 13 | Tefluthrin                | 0.941 | 0.02 | 197   | 177   |
| 14 | Endosulfan ether          | 0.991 | 0.02 | 306.8 | 276.9 |
| 15 | Vinclozolin               | 0.988 | 0.02 | 212   | 284.9 |
| 16 | Methyl Parathion          | 0.986 | 0.02 | 263   | 247   |
| 17 | Heptachlor                | 0.985 | 0.02 | 271.8 | 273.8 |
| 18 | Fenchlorphos              | 0.987 | 0.02 | 284.9 | 286.9 |
| 19 | Pentachloroethioanisole   | 0.991 | 0.02 | 295.9 | 245.9 |
| 20 | Fenthion                  | 0.988 | 0.02 | 278   | 245   |
| 21 | Chlorpyrifos              | 0.992 | 0.02 | 313.9 | 315.9 |
| 22 | 4,4'-Dichlorobenzophenone | 0.989 | 0.02 | 139   | 250   |
| 23 | Trichloronate             | 0.989 | 0.02 | 296.9 | 270.9 |
| 24 | MGK-264 Isomer II         | 0.991 | 0.02 | 164   | 112   |
| 25 | Isodrin                   | 0.989 | 0.02 | 262.9 | 363.9 |
| 26 | Heptachlor epoxide        | 0.989 | 0.02 | 352.9 | 350.9 |
| 27 | Fipronil                  | 0.993 | 0.02 | 366.9 | 368.9 |
| 28 | Triadimenol               | 0.998 | 0.02 | 168.1 | 112   |
| 29 | <i>Folpet</i>             | 0.923 | 0.02 | 260   | 104.1 |
| 30 | Procymidone               | 0.991 | 0.02 | 282.9 | 284.9 |
| 31 | Chlorbenside              | 0.992 | 0.02 | 125   | 127   |
| 32 | cis-Chlordane             | 0.990 | 0.02 | 374.8 | 372.8 |
|    | trans-Chlordane           | 0.988 | 0.02 | 374.9 | 370.9 |
| 33 | 4,4'-DDE                  | 0.990 | 0.02 | 246   | 317.9 |
| 34 | <i>Endosulfan I</i>       | 0.944 | 0.02 | 277   | 306.9 |
| 35 | Chlorfenson (Ovex)        | 0.992 | 0.02 | 174.9 | 301.9 |
| 36 | cis-Nonachlor             | 0.988 | 0.02 | 408.8 | 410.8 |
|    | trans-Nonachlor           | 0.991 | 0.02 | 408.8 | 410.8 |
| 37 | Prothiofos                | 0.991 | 0.02 | 308.9 | 162   |
| 38 | 2,4'-DDE                  | 0.989 | 0.02 | 246   | 317.9 |
| 39 | Dieldrin                  | 0.995 | 0.02 | 278.9 | 263   |
| 40 | 4,4'-DDD                  | 0.991 | 0.02 | 235   | 199.1 |
| 41 | Bupirimate                | 0.997 | 0.02 | 273   | 316.1 |
| 42 | Ethylan (Perthane)        | 0.989 | 0.02 | 223.1 | 224.1 |
| 43 | Chlorfenapyr              | 0.992 | 0.02 | 58.9  | 247.1 |
| 44 | Endrin                    | 0.988 | 0.02 | 262.9 | 260.9 |

|    |                          |                                             |      |       |       |
|----|--------------------------|---------------------------------------------|------|-------|-------|
| 45 | Endosulfan II            | 0.978                                       | 0.02 | 194.9 | 228.9 |
| 46 | 2,4'-DDD                 | 0.970                                       | 0.02 | 235   | 237   |
| 47 | 4,4'-DDT                 | 0.993                                       | 0.02 | 235   | 237   |
| 48 | Sulprofos                | 0.991                                       | 0.02 | 321.9 | 140.1 |
| 49 | 4,4'-Methoxychlor olefin | 0.990                                       | 0.02 | 307.9 | 238   |
| 50 | Endosulfan sulfate       | 0.993                                       | 0.02 | 423.9 | 276.1 |
| 51 | 2,4'-DDT                 | 0.982                                       | 0.02 | 121   | 227.1 |
| 52 | Propargite               | 0.999                                       | 0.02 | 350.1 | 173.1 |
| 53 | Resmethrin               | 0.999                                       | 0.05 | 123.1 | 171.1 |
| 54 | Endrin ketone            | 0.996                                       | 0.1  | 318.9 | 316.9 |
| 55 | Bifenthrin               | 0.988                                       | 0.2  | 181.1 | 166.1 |
| 56 | <i>cis-Permethrin</i>    | 0.977                                       | 0.02 | 183   | 184   |
|    | <i>trans-Permethrin</i>  | 0.901                                       | 0.02 | 183   | 184   |
| 57 | Coumaphos                | 0.998                                       | 0.02 | 362.1 | 364.1 |
| 58 | Etofenprox               | 0.995                                       | 0.02 | 163.1 | 376.2 |
| 59 | Fenvalerate              | 0.999                                       | 0.02 | 167   | 419.1 |
| 60 | tau-Fluvalinate          | 0.994                                       | 0.05 | 250   | 252   |
| 61 | Paclobutazol             | 0.991                                       | 0.02 | 236.1 | 238.1 |
| 62 | Cyfluthrine isomer I     | <i>Эффект матричного влияния</i>            |      |       |       |
|    | Cyfluthrine isomer II    |                                             |      |       |       |
|    | Cyfluthrine isomer III   |                                             |      |       |       |
|    | Cyfluthrine isomer IV    |                                             |      |       |       |
| 63 | Cypermethrine isomer I   | <i>Эффект матричного влияния</i>            |      |       |       |
|    | Cypermethrine isomer II  |                                             |      |       |       |
| 64 | Naled                    | <i>Дегградация вещества в испарителе ГХ</i> |      |       |       |
| 65 | Captan                   | <i>Сигнал низкой интенсивности</i>          |      |       |       |

### Обсуждение результатов

Стоит отметить, что не все соединения были приняты для расчёта полученных результатов. В частности, были исключены соединения, которые имели высокую степень надёжности их детектирования на системах ВЭЖХ-МС-МС (ионизация методом электроспрей). В итоге в качестве демонстрационных результатов эксперимента было принято использовать 65 соединений (таблица 3).

Дополнительной проблемой при работе с образцами конопли является необходимое пятикратное разбавление извлекаемых соединений растворителем в процессе пробоподготовки (2 грамма образца экстрагируют 10 миллилитрами ацетонитрила → 1:5), что, соответственно, требует от масс-спектрометрической системы детектировать концентрации в 5 раз ниже ожидаемых. Подобный эффект, безусловно, существенно повлиял на характеристику чувствительности метода.

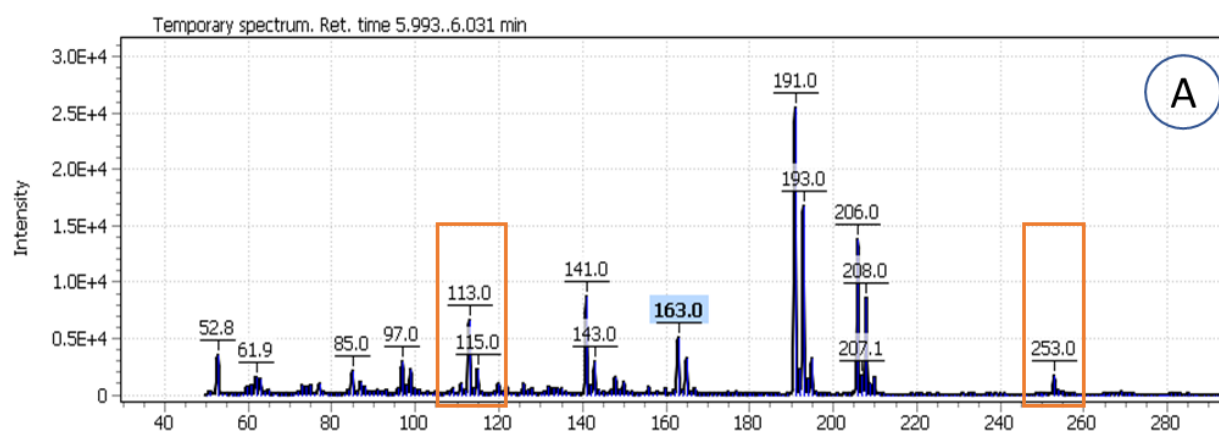
Результаты исследования показали, что из 65 действующих веществ пестицидов, принятых к исследованию, 54 могут быть детектированы и количественно рассчитаны на уровне ниже или равном 0,02 ppm (0,1 ppm в исходном сырье). Остальные 15% соединений характеризовались либо более высоким уровнем детектирования ( > 0,1 ppm) или же были вовлечены в эффект матричного влияния, который проявлялся в виде усиления или

подавления искоемых хроматографических пиков в профиле, что, соответственно, выражалось в неоднозначности или невозможности их идентификации.

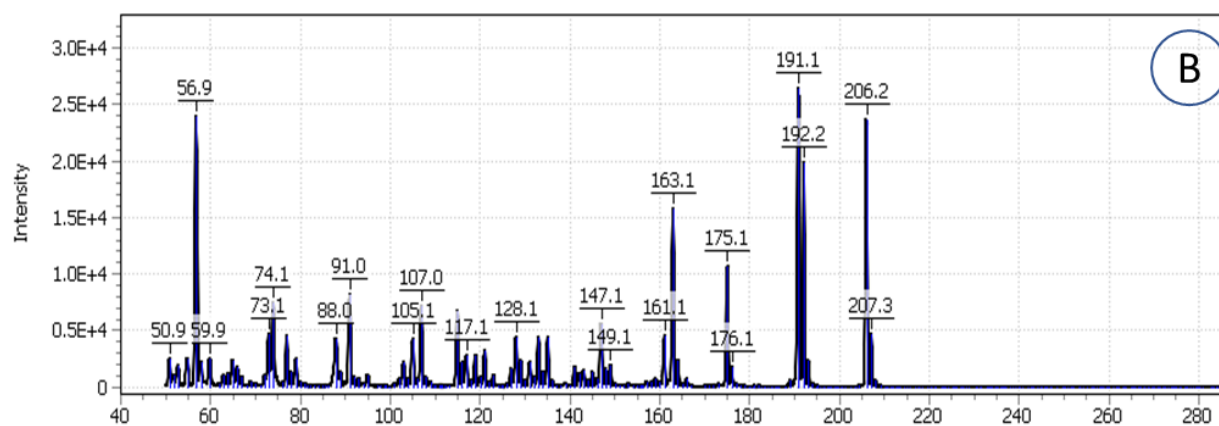
Как пример, на рисунке 7 представлены спектры компонента хлоронеб (А), который элюируется одновременно с матричным пиком терпена (В), который в свою очередь имеет практически схожий спектр. Наличие подобных интерферирующих компонентов в матричном фоне зачастую делает невозможным детектирование соединений по наиболее интенсивным и, казалось бы, оптимальным ионам, которые зачастую можно встретить в литературных источниках.

**Рис. 7.** Сравнение спектров действующего вещества хлоронеб (А) и спектр матричного фона (В) находящегося в «суперпозиции» с пиком вещества хлоронеб.

*Спектр стандарта действующего вещества хлоронеб*

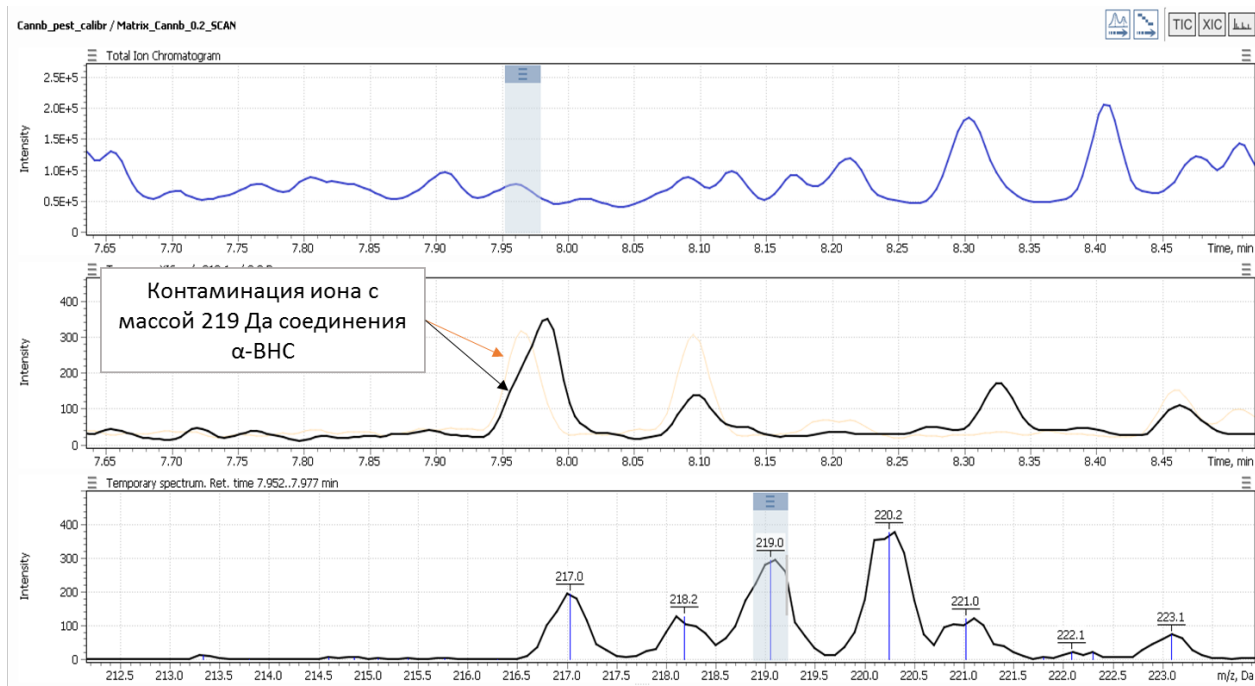


*Спектр терпена (матрица), который находится в «суперпозиции» с веществом хлоронеб*



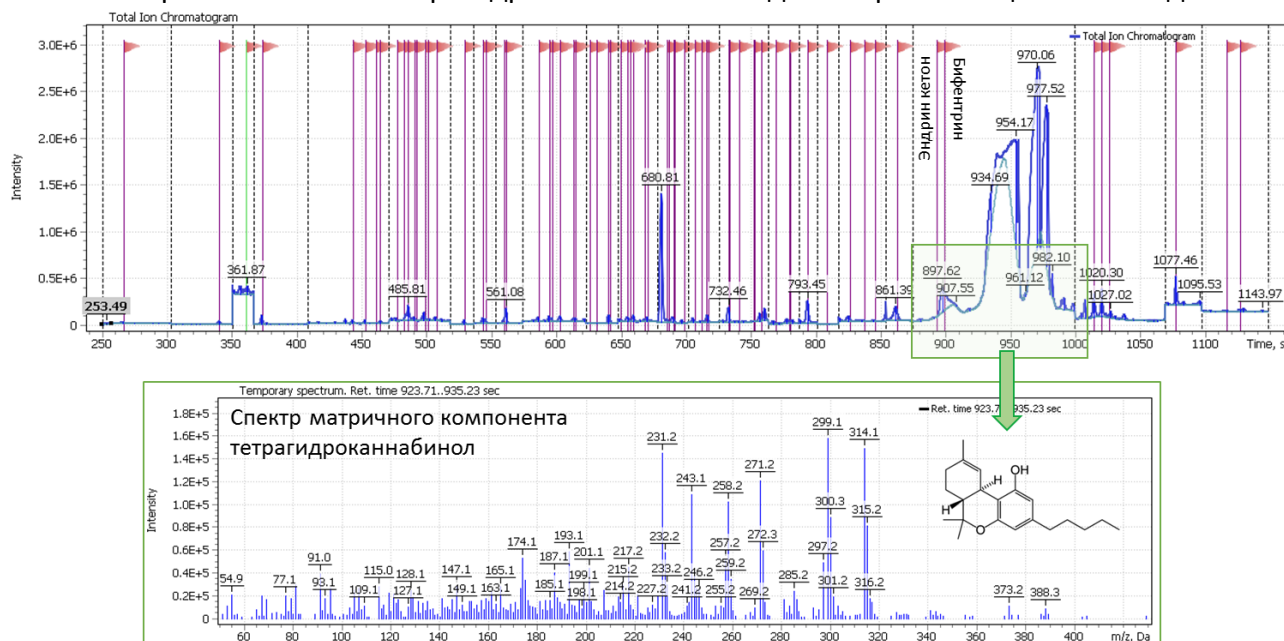
На рисунке ниже представлен случай контаминации иона гексахлоран с массой 219 Дальтон.

Рис. 8. Случай контаминации иона гексахлоран с ионом матрицы.

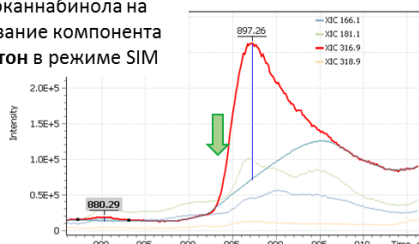


Только детальная проработка спектров позволяет сделать выбор оптимальных ионов для регистрации искоемых соединений, при этом зачастую жертвуя в какой-то степени и чувствительностью инструментального метода.

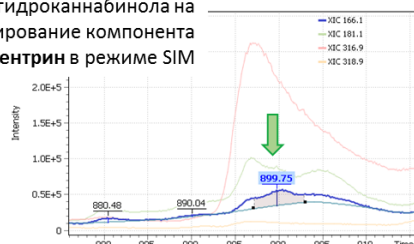
Рис. 9. Матричное влияние тетрагидроканнабинола на детектирование целевых соединений.



Матричное влияние тетрагидроканнабинола на детектирование компонента Эндрин кетон в режиме SIM



Матричное влияние тетрагидроканнабинола на детектирование компонента бифентрин в режиме SIM





Ещё одной причиной низкого предела обнаружения некоторых соединений также может являться их способность к деградации, даже при комнатной температуре. Например, *налед* деградирует до соединения *дихлорфос* даже при комнатной температуре, следовательно, такие пестициды иногда анализируются вместе и количественно определяется только по пику *дихлорфос*.

### Вспомогательный алгоритм пост-обработки данных Flexible SIM.

Эксперименты с комплексной матрицей предполагают довольно кропотливую работу с подбором индивидуального (эксклюзивного) иона для каждого целевого компонента. Как уже было ранее представлено на рисунках 7, 8 и 9, матричный фон приводит к искажению уровня сигнала целевого аналита на квадрупольных системах даже в режиме селекции выделенных ионов. Поэтому незаменимым помощником для эксперта в процессе разработки экспериментального метода является инновационный алгоритм пост-обработки данных «Flexible SIM». Алгоритм позволяет эксперту выбирать максимально чистый расчётный ион для выполнения количественного анализа уже после сбора масс-спектрометрических данных, что представлено на рисунке 10. В частности, алгоритм «Flexible SIM» автоматически строит калибровочные зависимости для всех детектированных ионов, которые были указаны в методе независимо от их роли в методе (количественный ион или подтверждающий). Таким образом, эксперт получает возможность переключаться с одного иона на другой для самостоятельного анализа чистоты ионного пика для различных типов матриц. На рисунке 11 представлены матричные калибровки соединений диазинов, метил паратион и кумафос, полученные в результате работы с алгоритмом «Flexible SIM».

**Рис. 10.** Применение алгоритма «Flexible SIM» для пост-обработки данных на примере вещества дихлорфос (концентрация 0,05 ppm).

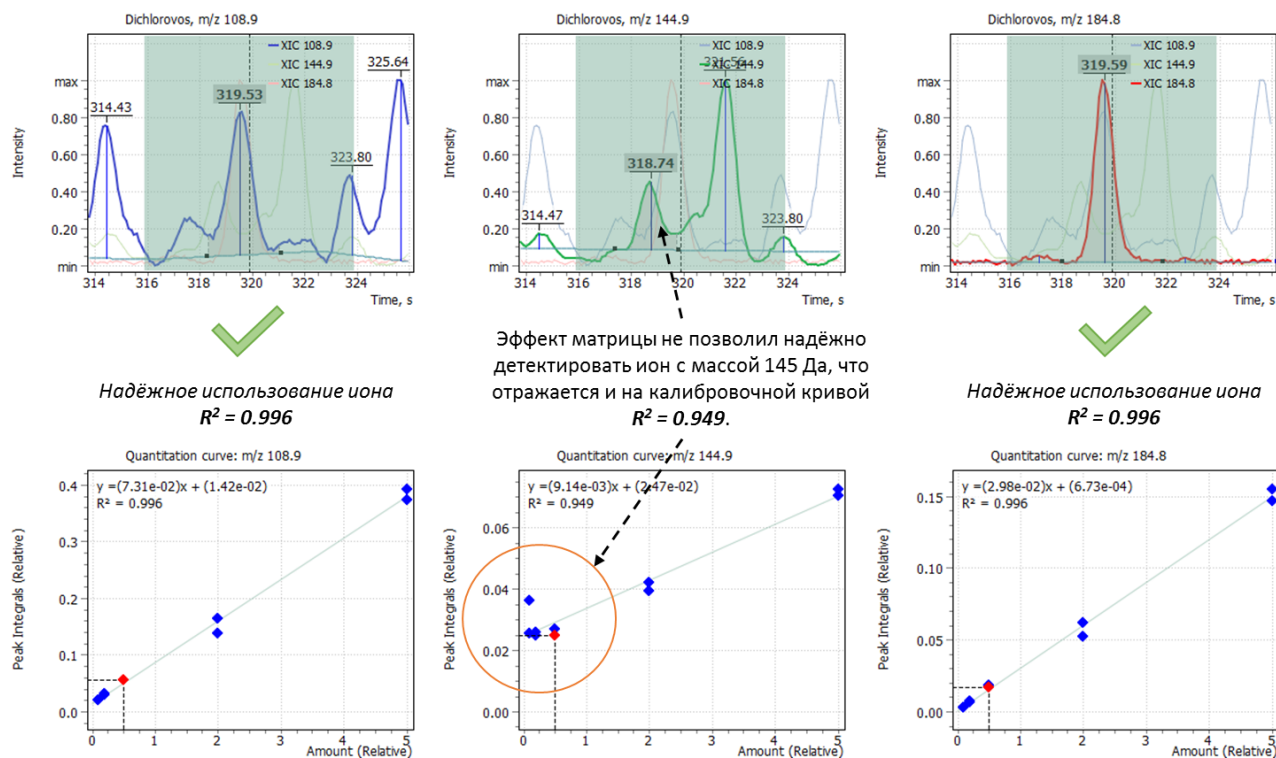
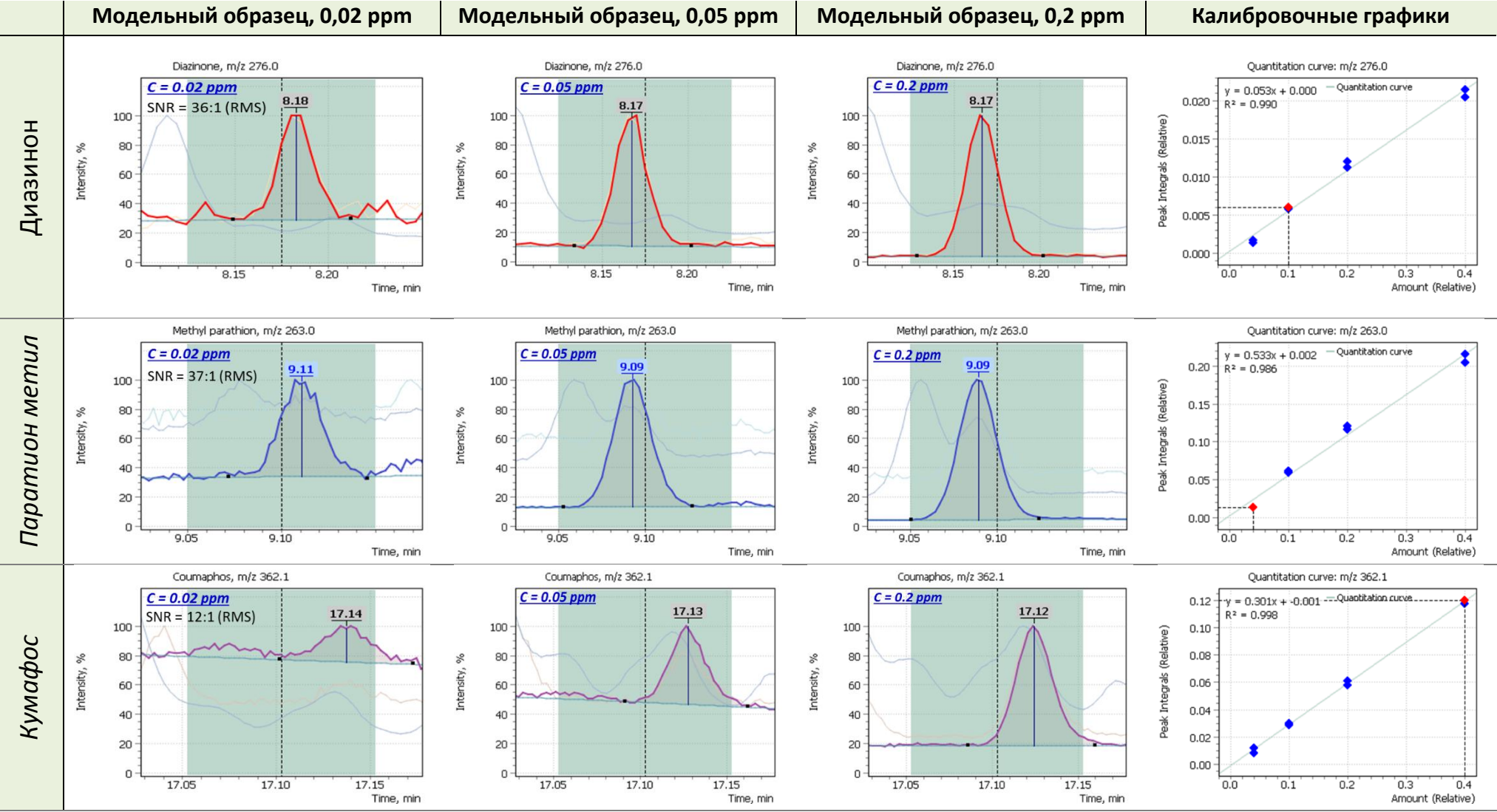


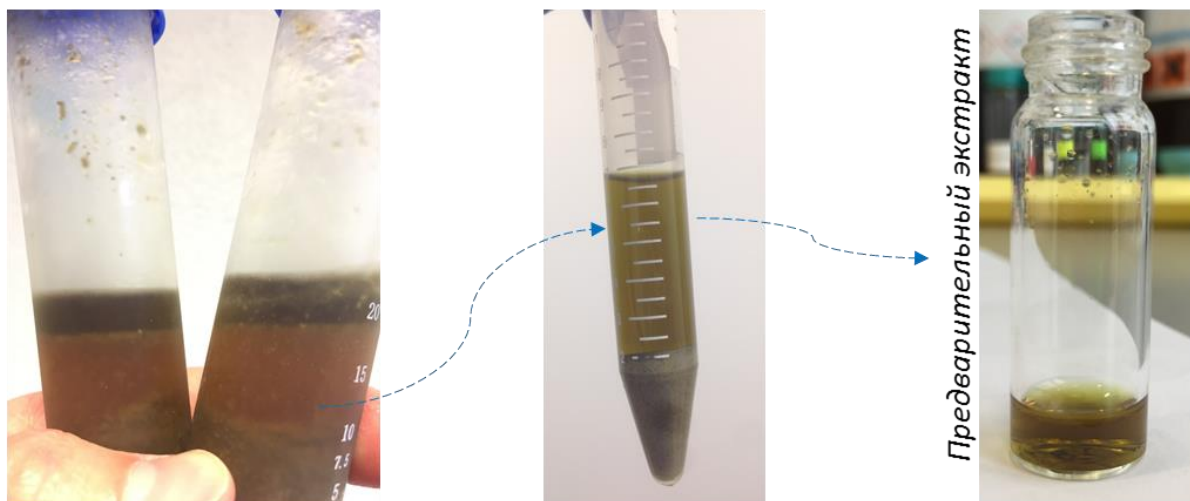
Рис. 11. Матричные калибровки соединений диазинов, метил паратион и кумафос, полученные в результате работы с алгоритмом «Flexible SIM».



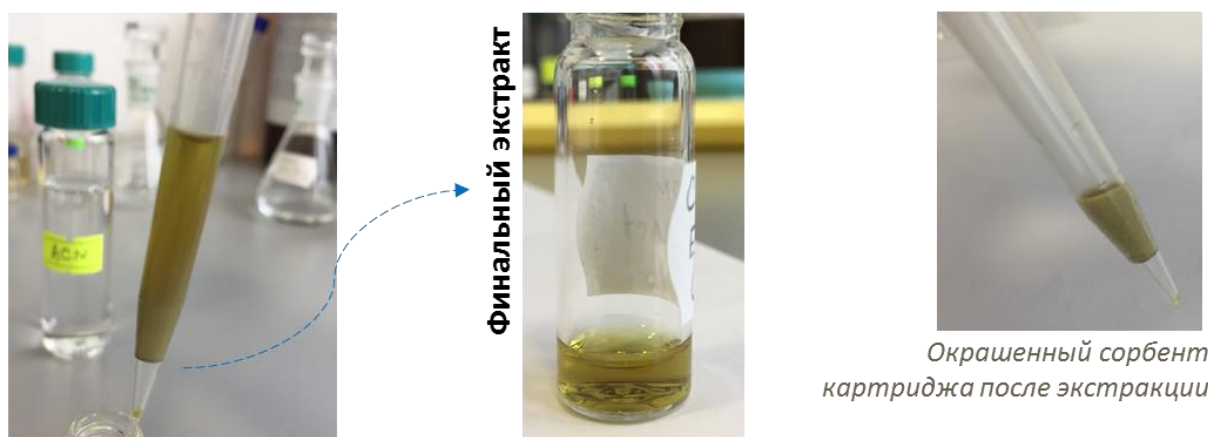
## Апробация метода твёрдофазной экстракции «в объёме»

С целью оптимизации метода пробоподготовки, снижения затрачиваемого времени и расходных материалов, было предложено также апробировать возможность использования одноразовых пипет-картриджей для очистки экстракта «в объёме». Принцип экстракции заключается в размещении 500 мкл образца на обращённо-фазном сорбенте, эффективном перемешивании за счёт воздушного тока через сорбент и последующем сборе исследуемой аликвоты во флакон автосамплера хроматографа. Преимуществом подобного способа очистки является скорость выполнения (30-60 секунд), а также минимальные требования к количеству образца (от 250 до 500 мкл). Процедура очистки представлена на рисунке 12.

**Рис. 12.** Процедура очистки экстракта с помощью твёрдофазной экстракции в объёме.



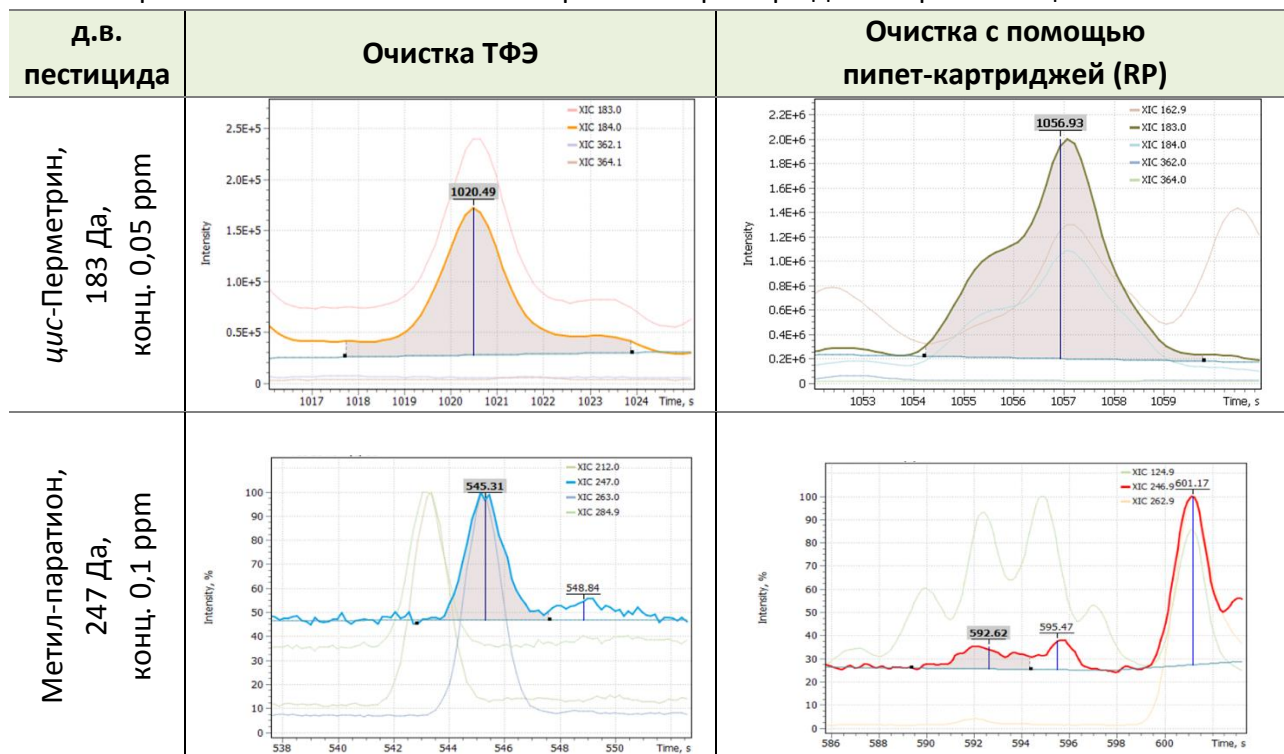
1. Классическая стадия **QuEChERS**, с очисткой первично-вторичным аминосорбентом Bondesil-PSA + графитизированная сажа



2. Стадия дополнительной очистки экстракта в объёме (с помощью пипет-картриджей)

Результаты исследования показали, что данный вид очистки недостаточен для детектирования соединений на уровне следовых количеств. В частности, на рисунке 13 представлены случаи интерференции масс-спектральных пиков целевых соединений после очистки экстракта пипет-картриджами и после классической твёрдофазной экстракции.

**Рис. 13.** Сравнение степени очистки экстракта на примере детектирования целевых ионов.



## Выводы

1. Хромато-масс-спектрометрическая система Маэстро-αМС позволяет детектировать ряд соединений для контроля их остаточных количеств в образцах конопли на уровне ниже 0,02 ppm.
2. Корректная настройка метода сканирования с учётом сложности матричного фона, а также использование эксклюзивных целевых ионов в режиме SIM позволяет достигать необходимого уровня детектирования согласно требованиям различных регулирующих органов контроля.
3. Наиболее оптимальная очистка экстракта была получена с помощью комплекса двух методов пробоподготовки, в частности, классического метода экстракции органических веществ QuEChERS с последующей второй стадией твёрдофазной очистки ацетонитрильного экстракта.
4. Тем не менее мешающие компоненты матрицы не позволили детектировать несколько соединений на низких уровнях их концентраций (< 500 ppb). В частности, такие соединения, как эндрин кетон, бифентрин (рис. 9), цифлутрин, циперметрин. Предполагается, что для их детектирования требуется более сложная методика пробоподготовки, которая позволила бы исключить также влияние высококонцентрированного компонента тетрагироканнабинола.

В целом, стоит заметить, что использование подобного комплексного подхода к мультикомпонентному анализу остаточных количеств пестицидов, который традиционно применяется к обычным сельскохозяйственным культурам, позволит проводить скрининг присутствия соединений как требуемых согласно нормативам, так и не включённых в список, которые могут остаться незамеченными в ходе контроля и в последствие выйти на розничный рынок в составе образца, если не будут приниматься подобные комплексные подходы тестирования.

В заключение отметим, что работа предполагает своё продолжение как в направлении поиска более оптимального способа очистки пробы, так и выделения более оптимальных режимов регистрации целевых ионов на фоне загруженной и комплексной матрицы.

### ***Литература***

- 1.** Бердышева А.О., Пшиканова С.Д., Христенко Г.А. «О проблеме легальной культивации технических сортов конопли
- 2.** Anastassiades M., Lehotay S.J, Stajnbaher D, and F.J. Schenck //The Journal of AOAC International V. 86. P. 412–431(2003).
- 3.** *Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food, 2016*