

Determination of Polychlorinated Biphenyls in Sunflower Oil by GC-MS Using Modified QuEChERS Sample Preparation

S.A. Senin, S.V. Midyk, V.I. Korniyenko, O.V. Machusky, Yu. S. Baranov, O.V. Zemtsova

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Heroyiv Oborony Str, 15, Kyiv, 03041, Ukraine;
*e-mail: sergejsen@gmail.com

Received: February 09, 2024; Accepted: October 22, 2024

DOI: 10.17721/moca.2024.179-186

The method for analyzing polychlorinated biphenyls (PCBs) in sunflower oil was developed by GC-MS employing a modified QuEChERS sample preparation technique. The method for determination of PCBs (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153, and PCB 180) in sunflower oil was validated according to the following criteria: selectivity, linearity, limits of detection (LOD), limits of quantification (LOQ), accuracy, and precision. For extraction of PCBs from sunflower oil, we suggested a solvent mixture consisting of acetonitrile, hexane, and dichloromethane in a ratio of 100:20:20 for the initial stage of the modified QuEChERS sample preparation. The findings from the study on the method's selectivity indicated that the assessment of PCB content in sunflower oil remains unaffected by the presence of other components within the sample. It was found that the correlation coefficients for six PCBs range from 0.995 to 0.998 ($R^2 > 0.995$). The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) of the PCBs are below the maximum permitted levels set by the European Union (EU). Percent recovery in the range from 81 to 102% indicates the acceptability (R , 80–120%) of the PCBs extraction procedure using modified QuEChERS sample preparation. The relative standard deviation (RSD, %) of the measurement results under conditions of repeatability ranged from 2.2 to 11.5% ($RSD \geq 15\%$).

The data obtained from the method validation assessment (validation) comply with the European Commission Regulation (EU) № 589/2014 criteria.

Keywords: validation, PCBs, sunflower oil, QuEChERS, GC-MS

Визначення поліхлорованих біфенілів у соняшниковій олії методом GC-MS з використанням модифікованої пробопідготовки QuEChERS

С.А. Сенін, С.В. Мідик, В.І. Корнієнко, О.В. Мачуський, Ю.С. Баранов, О.В. Земцова

Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна; *e-mail: vsergejsen@gmail.com

Надійшла: 09 лютого 2024 р.; Прийнята: 22 жовтня 2024 р

DOI: 10.17721/moca.2024.179-186

Розроблена методика визначення поліхлорованих біфенілів (ПХБ) у соняшниковій олії методом газової хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням (ГХ-МС) з використанням модифікованої пробопідготовки QuEChERS. Оцінку придатності (валідацію) методики визначення ПХБ (ПХБ28, ПХБ52, ПХБ101, ПХБ138, ПХБ153 та ПХБ180) у соняшниковій олії методом ГХ-МС з використанням модифікованої пробопідготовки QuEChERS здійснювали за наступними характеристиками: селективність, лінійність, межа детектування (LOD), межа кількісного визначення (LOQ), правильність та прецизійність. Для екстракції ПХБ із соняшникової олії нами було запропоновано суміш розчинників: ацетонітрил : гексан : дихлорметан (100:20:20) на першому етапі модифікованої пробопідготовки QuEChERS. Результати дослідження селективності методики показали, що визначенню вмісту ПХБ у соняшниковій олії не заважають інші компоненти проби. Встановлено, що коефіцієнти кореляції для шести ПХБ знаходяться в діапазоні від 0.995 до 0.998 ($R^2 \geq 0.995$). Межі виявлення (LOD) та межі кількісного визначення (LOQ) ПХБ нижчі максимально дозволених рівнів, встановлених Європейським Союзом (ЄС). Відсоток повернення в межах від 81% до 102%, вказує на прийнятність (R , 80–120%) процедури екстракції ПХБ за допомогою модифікованої пробопідготовки QuEChERS. Відносне стандартне відхилення (RSD, %) результатів вимірювання в умовах збіжності склало від 2.2% до 11.5% ($RSD \geq 15\%$).

Отримані дані оцінки придатності методу (валідації) відповідають критеріям Регламенту комісії (ЄС) №589/2014

Ключові слова: валідація, ПХБ, соняшникова олія, QuEChERS, ГХ-МС

Вступ

Ринок олійних культур є одним із найперспективніших для України. Олійні культури користуються попитом на світовому і внутрішньому ринку, забезпечують доходність сільськогосподарських підприємств. Площі посівів більшості олійних культур щорічно зростають, але сучасні умови вимагають зміни не тільки кількісних, але і якісних показників продукції переробки окремих сільськогосподарських культур. При виробництві рослинної олії важливу роль відіграє якісний та кількісний склад кішварного до споживання продукту та його відповідність чинним в Україні нормативним документам [1].

Якість та безпека соняшникової олії, що реалізується для споживачів в Україні, відповідно до ДСТУ 4492:2017 «Олія соняшникова. Технічні умови» [2], залежить від низки показників, серед яких на особливу увагу заслуговують поліхлоровані біфеніли (ПХБ).

ПХБ відносяться до класу ароматичних сполук, що складаються з двох бензольних кілець, з'єднаних через між'ядерний зв'язок. Вони які в орто-, мета- або пара- положеннях між двома від одного до десяти атомів хлору (рис. 1). На сьогодні відомо 209 індивідуальних конгенерів ПХБ, які відрізняються між собою кількістю і положенням атомів хлору в молекулі та мають спільну структурну формулу: $C_{12}H_{10-n}Cl_n$, де $n=1-10$.

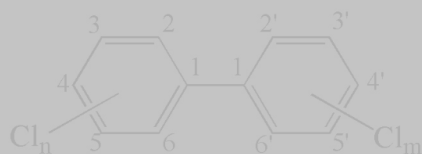


Рис. 1. Структурна формула ПХБ.

Оскільки ПХБ належать до класу хлорорганічних сполук та характеризуються високою розчинністю в жирах, це сприяє підвищенню ризику надходження цих речовин до продуктів харчування та продовольчої сировини. Як показують дослідження, ПХБ можуть викликати ендокринні, імунологічні та репродуктивні захворювання [4, 5]. Крім того, згідно даних Міжнародного агентства з дослідження раку (IACR), ПХБ визнані як потенційні канцерогени [6]. Згідно діючого нормативного документу [2] та Регламенту комісії ЄС №1259/2011 [7], сума ПХБ (PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 та PCB180) у соняшниковій олії не повинна перевищувати 40.0 нг/г (0.04 мг/кг).

Як правило, для кількісної оцінки вмісту ПХБ використовують газорідинну хроматографію з електронно-захоплюючим детектором (ЕЗД). Основні труднощі при визначенні ПХБ у різних оліях виникають через складний багатокомпонентний склад вихідної матриці. Як відомо, олії часто містять інші органічні домішки,

які можуть знижувати чутливість детектору та переважувати хроматографічну систему. Крім того, разом із ПХБ можуть елююватися також інші хлорорганічні компоненти, такі як поліхлортерфеніли, бутил-монохлордіфенілові ефіри, ізопропіл-хлорбіфеніли, хлорбензоли та хлорорганічні пестициди, які не ідентифікуються, але можуть бути включені в загальну «суму ПХБ». Потрібно також зазначити, що існуючі методики визначення ПХБ у харчових продуктах є трудомісткими, тривалими та потребують складної і багатоступінчатої пробопідготовки [8, 9].

З огляду на це, актуальним стає вдосконалення існуючих та розробка нових методів кількісного визначення ПХБ у харчових продуктах з максимальним усуненням вищезазначених недоліків.

Нині все більше уваги привертає метод газорідинної хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням (ГХ-МС), який характеризується помітно більшою селективністю на відміну від інших типів детекторів. Він має не меншу чутливість ніж ЕЗД-детектор і дозволяє здійснювати ідентифікацію на підставі структурної інформації за молекулярними і осколковими іонами у мас-спектрі. Висока чутливість у ГХ-МС досягається при використанні селективного детектування обраних іонів (SIM). Характерна картина ізотопного розподілу хлорвмісних іонів дає додаткові можливості для ідентифікації ПХБ [8].

Для пробопідготовки при визначенні множинних залишків ксенобіотиків все частіше використовують методологію QuEChERS (Quick – Швидко, Easy – Просто, Cheap – Дешево, Effective – Ефективно, Rugged – Надійно, Safe – Безпечно). Вона дозволяє швидко та ефективно проводити екстракцію залишкових кількостей цільових компонентів та очищення екстракту від компонентів матриці. Процедура методу включає розподіл аналітів у системі «рідина-рідина» з використанням ацетонітрилу та очищення екстракту за допомогою дисперсійної твердофазної екстракції (д-ТФЕ) [10, 11].

Спочатку пробопідготовка за методом QuEChERS була призначена для аналізу залишкових кількостей пестицидів у фруктах та овочах з високим вмістом жиру. Проте, як свідчать останні дані, пробопідготовка QuEChERS у тій чи іншій модифікації може застосовуватися також для визначення залишкових кількостей антибіотиків [12], авермектинів [13], бензimidазолів [14], мікотоксинів [15], ПХБ [16, 17] тощо.

Згідно проведених досліджень [18] за використання стандартної пробопідготовки QuEChERS не спостерігається негативних матричних ефектів при аналізі овочів, фруктів та інших матриць із вмістом ліпідів до 4%. Однак, при аналізі рослинних олій, насіння олійних культур та шроту, виявлено низьке повернення (ступінь

випущення з жирової матриці) хлорорганічних стійких забруднювачів, зокрема хлорорганічних пестицидів, та деяких ПХБ, що виникають на фоні значного матричного впливу [19].

У зв'язку з цим, актуальним стає потреба в удосконаленні (модифікації) традиційної методики пробопідготовки QuEChERS, як б була наділена прийнятними метрологічними характеристиками відповідно до вимог Регламенту комісії ЄС № 589/2014 [20] та Commission Decision 2002/657/EC [21].

Тому, метою даної роботи було провести оцінку придатності (валідацію) методики вимірювання вмісту поліхлорованих буренинів у соняшниковій олії за методом ГХ-МС з використанням модифікованої пробопідготовки QuEChERS.

Матеріали та методи дослідження

Реактиви. У роботі використовували аналітичний стандарт суміші 6-ти ПХБ (ПХБ28, ПХБ52, ПХБ101, ПХБ138, ПХБ153 та ПХБ180) у концентрації 10 мкг/мл в ізооктані (виробництва Supelco (Німеччина). Для пробопідготовки QuEChERS використовували ацетонітрил HPLC якості (виробництва Sigma-Aldrich, Франція), гексан HPLC якості (виробництва Merck, Німеччина), дихлорметан HPLC якості (виробництва Sigma-Aldrich, Німеччина) та сорбенти для очищення ацетонітрильного екстракту Copure® QuEChERS Clean-up Kit (900 mg MgSO₄, 150 mg PSA, 150 mg C18).

Як матрицю використовували рафіновану соняшкову олію.

Приготування розчинів для побудови градувального графіка. Розчини для побудови градувальної залежності готували шляхом розбавлення стандартної суміші ПХБ в екстракті соняшникової олії (холості проби), що не містять ПХБ (*matrix-matched calibration*). Концентрації ПХБ у розчинах при побудові градувальної залежності становили 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 і 1.0 мкг/мл.

Підготовка зразків соняшникової олії за стандартною методикою QuEChERS [22].

Екстракція. Зважували 10±0.1 г рослинної олії у центрифужній пробірці місткістю 50 мл. Додавали 10 мл води та перемішували на вортексі протягом 1 хв. До отриманої суміші додавали 10 мл ацетонітрилу, перемішували на вортексі протягом 1 хв. Додавали 4 г безводного сульфату магнію, 1 г хлориду натрію, 1 г (± 0.05 г) тринатрію цитрат дигідрату та 0.5 г (± 0.03 г) динатрію цитрат сесквігідрату, після чого інтенсивно струшували впродовж 3 хв. Отриману суміш центрифугували протягом 7 хв при 7000 об/хв. Відбирали дозатором 8 мл верхнього органічного шару і переносили у грушоподібну колбу для випаровування. Випаровували екстракт на роторному випарнику за температури 40 °С.

допомогою дисперсійної твердофазної екстракції (dSPE). До сухого залишку додавали 1 мл ацетонітрилу, після чого переносили екстракт у центрифужну пробірку з сумішшю сорбентів для очищення Copure® QuEChERS Clean-up Kit (наважка сорбенту перерахована на 1 мл екстракту) та інтенсивно струшували протягом 1 хв. Після цього проводили центрифугування протягом 7 хв при 7000 об/хв. Відбирали дозатором верхній органічний шар очищеного екстракту (0.7 мл) і переносили у віалу місткістю 2 мл. Отримані очищені екстракти аналізували методом ГХ/МС з використанням програмного забезпечення приладу DRS-AMDIS.

Підготовка зразків соняшникової олії за модифікованою методикою QuEChERS [19].

Екстракція. Зважували 10±0.1 г рослинної олії у центрифужній пробірці місткістю 50 мл. Додавали 10 мл суміші розчинників ацетонітрил:гексан:дихлорметан (100:20:20) та інтенсивно струшували протягом 1 хв. Отриману суміш центрифугували протягом 7 хв при 7000 об/хв. Відбирали дозатором 5 мл верхнього органічного шару і переносили у грушоподібну колбу для випаровування. Додавали до наважки олії в центрифужній пробірці другу порцію (10 мл) суміші розчинників (ацетонітрил : гексан : дихлорметан) у співвідношенні 100:20:20 та інтенсивно струшували протягом 1 хв. Отриману суміш центрифугували протягом 7 хв при 7000 об/хв. Відбирали дозатором верхній органічний шар (0.7 мл) і також переносили у грушоподібну колбу. Випаровували об'єднаний екстракт на роторному випарнику за температури 40 °С.

Очищення отриманих екстрактів за допомогою dSPE. До сухого залишку додавали суміш розчинників (1 мл) ацетонітрил : гексан : дихлорметан (100:20:20). Переносили 1 мл екстракту у центрифужну пробірку з сумішшю сорбентів для очищення Copure® QuEChERS Clean-up Kit (наважка сорбенту перерахована на 1 мл екстракту) та інтенсивно струшували протягом 1 хв. Після цього проводили центрифугування протягом 7 хв при 7000 об/хв. Відбирали дозатором верхній органічний шар очищеного екстракту (0.7 мл) і переносили у віалу місткістю 2 мл. Отримані очищені екстракти аналізували методом ГХ/МС з використанням програмного забезпечення приладу DRS-AMDIS.

Хроматографічні та мас-спектрометричні умови. Для визначення вмісту ПХБ використовували газовий хроматограф Agilent Technologies 7890A (США) з мас-спектрометричним детектором Agilent Technologies 5975C MSD (США).

Розділення ПХБ здійснювали на кварцовій капілярній колонці HP-5MS, довжиною 15 м, внутрішнім діаметром – 0.25 мм та товщиною плівки нерухомої фази – 0.25 мкм.

Очищення отриманих екстрактів за

Хроматографічні умови: температура інжектора

– 270°C; газ-носіє – гелій; швидкість потоку газу на колонку – 1.2 мл /хв.; температура термостату колонки програмувалася від 70 до 280°C. Температурна програма термостату колонки: 70°C (утримування 1 хвилину), нагрівання до 150°C зі швидкістю 50°C/хв., нагрівання до 200°C зі швидкістю 6°C/хв., нагрівання до 280°C зі швидкістю 16°C/хв.(утримування 5 хвилин). Температура трансферної лінії – 280°C; об'єм введеної проби – 1 мкл.

Мас-спектрометричні умови: температура інтерфейсу – 280°C; температура джерела іонів – 230°C; температура квадруполя – 150°C; тип іонізації – EI (електронна іонізація, 70 eV).

Детектування ПХБ відбувалося в режимі роботи SIM (селективного моніторингу вибраних іонів). Для ідентифікації ПХБ використовували чотири іони. Сигнал найбільш інтенсивного іону використовували для кількісної оцінки (іон-квантифікатор), інші три іони були підтверджуючими для якісної ідентифікації ПХБ (іони-кофікатори, Таблиця S1).

Оцінку результатів здійснювали за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення приладу DRS-AMDIS. Масову частку кожного ПХБ розраховували за методом зовнішнього стандарту з використанням матричних градувальних розчинів (*matrix-matched calibration*) і виражали у мг/кг.

Оцінювання придатності методики проводили відповідно до Регламенту комісії ЄС № 589/2014 [20] та Commission Decision 2002/657/EC [21], що забезпечує виконання Директиви ЄС 96/23/ЄС, яка стосується ефективності аналітичних методів та інтерпретації результатів [23]. Оцінку придатності методу проводили за наступними валідаційними характеристиками: селективність, лінійність, межа виявлення (LOD), межа кількісного визначення (LOQ), правильність (повернення) та прецизійність.

Результати досліджень та їх обговорення

Екстракція ПХБ з рослинних олій з метою наступного кількісного їх визначення – досить складне завдання з огляду на те, що ці аналіти щільно зв'язані з компонентами матриці. За даними наукової літератури, ПХБ з рослинних олій та інших жирних продуктів можуть екстрагуватися із застосуванням методології QuEChERS, як в традиційному варіанті, так і в різних модифікаціях.

Нині у науковій літературі описано різні варіанти модифікації пробопідготовки QuEChERS для екстракції ПХБ із жирних продуктів. Так, на першому етапі екстракції в модифікованих варіантах пробопідготовки QuEChERS, можна зустріти наступні розчинники: етилацетат : ацетон : ізооктан, (2:2:1 за об'ємом) – для м'ясних продуктів [24], 100% ацетонітрил – для молочних продуктів [16] та для жирів рослинного і тваринного походження [25]. З метою знежирення, ацетонітрильні екстракти витримують при мінус 18°C протягом 2-х годин та

фільтрують перед другим етапом дисперсійного очищення з використанням сорбентів.

Потрібно також зазначити, що останнім часом на другому етапі очищення екстрактів у модифікованих варіантах пробопідготовки QuEChERS використовують окрім традиційних сорбентів (C18, PSA та безводного MgSO_4), також і Z-Sep+ сорбент (містить C18 та діоксид цирконію) для очищення екстрактів з високим вмістом жиру [24].

У даній роботі для екстракції ПХБ з рослинних олій використовували пробопідготовку QuEChERS, як у традиційному (використання ацетонітрилу на першому етапі екстракції) так і у модифікованому варіантах. Попередній пошук розчинників для першого етапу екстракції ПХБ з рослинних олій здійснювали на підставі аналізу їх фізико-хімічних показників, зокрема логарифму коефіцієнту розподілу органічних сполук у системі октанол-вода ($\log K_{ow}$).

Нами було розроблено експериментальний метод екстракції ПХБ у рослинних оліях за використання методології QuEChERS з певними модифікаціями першого етапу цієї пробопідготовки [19].

Суть модифікації методу QuEChERS полягає у мікроекстракції «рідина-рідина» (олія-суміш розчинників), у якій відсутні етапи з додаванням води та солей. Екстракція ПХБ із соняшникової олії здійснюється сумішшю розчинників ацетонітрилу, гексану і дихлорметану у співвідношенні 100:20:20 (за об'ємом). Підготовка проби завершується дисперсійним очищенням екстрактів (dSPE) з використанням суміші сорбентів силікагелю C18, первинної аніонообмінної смоли з первинними/вторинними амінами (PSA – первинний/вторинний аміни, безводного MgSO_4 .

Оцінку ефективності екстракції (*правильність*) ПХБ з рослинних олій здійснювали методом «введено-знайдено», як для традиційного так і для модифікованого варіанту пробопідготовки QuEChERS. До зразків соняшникової олії, що не містять залишкових кількостей ПХБ, додавали аналітичний стандарт (ПХБ 28, ПХБ 52, ПХБ 101, ПХБ 153, ПХБ 168 та ПХБ 180) на рівні 0.050 та 0.100 мг/кг після проведення всіх етапів традиційної та модифікованої пробопідготовки QuEChERS визначали вміст ПХБ методом ГХ-МС та розраховували ступінь вилучення (R_i , %) для кожної модельної матриці (соняшникової олії, яка штучно збагачена ПХБ на рівні 0.050 та 0.100 мг/кг).

Коефіцієнт вилучення (R_i , %) для кожного ПХБ розраховували за формулою (1).

$$R_i = \frac{C_{\text{зн}} - C_0}{C_{\text{дод}}} \times 100\% \quad (1)$$

де R_i – коефіцієнт вилучення i -того ПХБ, %;

$C_{\text{ан}}$ – концентрація i -того ПХБ, визначена у пробі з добавкою, мг/кг; $C_{\text{дод}}$ – концентрація i -того ПХБ, додана у пробу, мг/кг; C_0 – початкова концентрація i -того ПХБ у пробі, мг/кг.

Дослідження ефективності екстракції ПХБ (ПХБ 28, ПХБ 52, ПХБ 101, ПХБ 153, ПХБ 138 та ПХБ 180) з рослинної олії при використанні традиційного варіанту пробідготовки QuEChERS показало, що ступінь вилучення (R , %) ПХБ на рівні 0.050 мг/кг та на рівні 0.100 становив $\leq 50\%$. Низьке повернення (R , %) ПХБ з рослинної олії може бути обумовлене їх низьким перерозподілом з більш неполярної жирової матриці (соняшникової олії) у більш полярний розчинник для екстракції (ацетонітрил). Як відомо, для ПХБ (ПХБ 28, ПХБ 52, ПХБ 101, ПХБ 153, ПХБ 138 та ПХБ 180) характерні високі значення коефіцієнтів розподілу у системі октанол-вода (від 5,6 до 7,9).

Застосування запропонованої нами модифікованої пробідготовки QuEChERS для екстракції ПХБ з рослинної олії дозволяло отримати вищі результати ступеня вилучення (R , %), які становили $> 80\%$. Виявлено, що ступінь вилучення (R , %) ПХБ на рівні 0.050 мг/кг складає: для ПХБ 28 – 81%; ПХБ 52 – 86%; ПХБ 101 – 94%; ПХБ 153 – 91%; ПХБ 138 – 86% та для ПХБ 180 – 99%. Ступінь вилучення (R , %) ПХБ на рівні 0.100 мг/кг був встановлений у наступних значеннях: для ПХБ 28 – 98%; ПХБ 52 – 102%; ПХБ 101 – 100%; ПХБ 153 – 98%; ПХБ 138 – 95% та для ПХБ 180 – 96% (табл. 1).

Таким чином, отримані результати дослідження ступеня вилучення ПХБ з соняшникової олії при використанні модифікованої пробідготовки QuEChERS відповідають діапазону допустимих значень (80–120 %), які наведені в Регламенті комісії ЄС № 589/2014 [20].

Серед шести пріоритетних ПХБ є структурні ізомери (табл. S1), які утворюють однакові іони при іонізації, тому не можуть бути розділені при мас-спектрометричному детектуванні. Аналізуючи отримані нами мас-спектри ПХБ стандартних

розчинів було встановлено, що ПХБ 153 та ПХБ 138 утворюють однакові іони (m/z): 360; 362; 290 та 358. З огляду на це, для даних компонентів важливим є хроматографічне розділення. При оптимізації хроматографічних умов нами було досягнуто повністю розділення всіх структурних ізомерів ПХБ та встановлені часи виходу для цих компонентів: ПХБ 28 – 8.02 хв; ПХБ 52 – 8.89 хв; ПХБ 101 – 11.27 хв; ПХБ 153 – 13.05 хв; ПХБ 138 – 13.53 хв та ПХБ 180 – 14.58 хв (рис. S1, табл. S1).

Селективність. З метою визначення селективності методики аналізували зразки соняшникової олії, що не містять ПХБ (холості проби) та зразки, які штучно збагачені ПХБ (ПХБ 28, ПХБ 52, ПХБ 101, ПХБ 138, ПХБ 153, ПХБ 180) на рівні 0.050 мг/кг. Порівнюючи отримані мас-хроматограми нами було встановлено, що визначенню вмісту ПХБ у соняшниковій олії не заважають інші компоненти проби (рис. S2). Варто також зазначити, що газорідинна хроматографія з мас-спектрометричним детектуванням є високоселективним методом, який дозволяє визначати аналіт у присутності компонентів матриці за рахунок роботи детектору у режимі селективного детектування характеристичних іонів (SIM).

Лінійність. Для побудови градувальних залежностей було використано 5 розчинів ПХБ у модельних екстрактах відповідної матриці, що не містили ПХБ (*matrix-matched calibration*) із діапазоном концентрацією цих компонентів від 0.010 до 1.0 мкг/мл. Для кожного із стандартних розчинів було отримано 2 значення аналітичного сигналу (площі хроматографічного піка) з використанням однієї партії реактивів та обладнання. Регресійний аналіз отриманих даних проводили методом найменших квадратів з використанням лінійної моделі. Встановлено, що градувальні криві для всіх ПХБ показали значення R^2 від 0.997 до 0.999, які відповідають необхідному рівню ≥ 0.995 . Апроксимаційні рівняння із значеннями кутових коефіцієнтів нахилу градувальних залежностей наведено в таблиці 2.

Таблиця 1. Результати оцінки правильності та прецизійності результатів визначення ПХБ ($n=10$).

ПХБ	Проба з добавкою 0.050 мг/кг		Проба з добавкою 0.100 мг/кг	
	¹ R , %	² RSD, %	¹ R , %	² RSD, %
ПХБ 28	81	5.3	98	3.4
ПХБ 52	86	5.1	102	5.2
ПХБ 101	94	5.0	100	4.4
ПХБ 153	91	6.0	98	5.8
ПХБ 138	86	10.0	95	8.3
ПХБ 180	99	2.2	96	11.5

¹ R – ступінь вилучення; ² RSD – відносне середнє квадратичне відхилення.

Таблиця 2. Результати оцінки лінійності, межі виявлення та межі кількісного визначення розробленої методики.

Назва	Лінійний діапазон, мг/кг	Апроксимаційні рівняння	R ²	LOQ, мг/кг	LOD, мг/кг
ПХБ 28	0.01 – 1.0	$y = 6E+06x - 74877$	0.999	0.002	0.0006
ПХБ 52	0.01 – 1.0	$y = 5E+06x - 45032$	0.998	0.002	0.0006
ПХБ 101	0.01 – 1.0	$y = 3E+06x - 4582.5$	0.999	0.004	0.0012
ПХБ 153	0.01 – 1.0	$y = 1E+06x - 8476.5$	0.999	0.008	0.0024
ПХБ 138	0.01 – 1.0	$y = 2E+06x - 4573.2$	0.998	0.008	0.0024
ПХБ 180	0.01 – 1.0	$y = 667389x + 10153$	0.997	0.018	0.0054

Таким чином, можна зробити висновок, що стандартні криві у діапазоні від 0.010 до 1.0 мг/кг для поліхлорованих біфенілів (ПХБ28, ПХБ52, ПХБ101, ПХБ138, ПХБ153 та ПХБ180) є лінійними.

Межа виявлення (LOD). Межу виявлення для кожного ПХБ визначали на основі співвідношення сигнал/шум (S/N) хроматографічного піка, що у 3 рази перевищує S/N холостої проби (S/N=3). Результати досліджень показали, що межа виявлення ПХБ у соняшниковій олії становить: для ПХБ 28, 52 та 101 – 0.001 мг/кг; ПХБ 153 та 138 – 0.002 мг/кг та для ПХБ 180 – 0.005 мг/кг (табл. 1).

Межа кількісного визначення (LOQ). Межу кількісного визначення для кожного ПХБ визначали на основі співвідношення сигнал/шум (S/N) хроматографічного піка, що у 10 разів перевищує S/N холостої проби (S/N=10). Встановлено, що межа кількісного визначення ПХБ у соняшниковій олії становить: для ПХБ 28 та 52 – 0.002 мг/кг; ПХБ 101 – 0.004 мг/кг; ПХБ 153 та 138 – 0.008 мг/кг та для ПХБ 180 – 0.018 мг/кг (табл. 2).

Згідно чинного в Україні нормативного документу [2] та Регламенту комісії ЄС №1259/2011 [7], сума ПХБ (PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 та PCB180) у соняшниковій олії не повинна перевищувати 40.0 нг/г (0.04 мг/кг).

Отже, межа виявлення та межа кількісного визначення для поліхлорованих біфенілів за розробленою методикою прийнятні для їхнього визначення у соняшниковій олії згідно нормативної документації України та Регламенту комісії ЄС № 589/2014 [20].

Прецизійність. Прецизійність методики ГХ-МС аналізу ПХБ у соняшниковій олії визначали за збіжністю результатів вимірювання. Оцінку збіжності виконували за схемою:

- модельні (штучно збагачені ПХБ на рівні 0.050 та 0.100 мг/кг) зразки соняшникової олії аналізували в 10-ти повторах;

- провели даний експеримент в умовах збіжності (в однакових умовах з використанням одного і того ж обладнання, одним і тим же дослідником, за короткий проміжок часу);

розрахували величини відносного стандартного відхилення (RSD,%).

Встановлено, що відносне середнє квадратичне відхилення (RSD, %) результатів вимірювання модельних зразків соняшникової олії в умовах збіжності для ПХБ на рівні 0.050 мг/кг становить: для ПХБ 28 – 5.3%; ПХБ 52 – 5.1% ; ПХБ 101 – 5.0%; ПХБ 153 – 6.0%; ПХБ 138 – 10% та для ПХБ 180 – 2.2 %. Відносне середнє квадратичне відхилення (RSD, %) результатів вимірювання модельних зразків соняшникової олії в умовах збіжності для ПХБ на рівні 0.100 мг/кг складає: для ПХБ 28 – 3.4%; ПХБ 52 – 5.2% ; ПХБ 101 – 4.4%; ПХБ 153 – 5.8%; ПХБ 138 – 8.3% та для ПХБ 180 – 11.5% (табл. 1).

Отже, відносне середнє квадратичне відхилення результатів вимірювання в умовах збіжності знаходиться у межах від 2.2% до 11.5%, що не перевищує встановлених значень (RSD ≥ 15%), наведених у Регламенті комісії ЄС № 589/2014 [20]. Отримані результати оцінки збіжності свідчать про відсутність системних помилок у розробленій методиці.

Таким чином, оцінка придатності (валідація) методики з визначення шести поліхлорованих біфенілів (ПХБ 28, ПХБ 52, ПХБ 101, ПХБ 153, ПХБ 138 та ПХБ 180) у соняшниковій олії методом ГХ-МС з використанням модифікованої пробопідготовки QuEChERS показала прийнятні метрологічні характеристики.

У цілому, отримані результати узгоджуються з результатами досліджень інших авторів де було встановлено, що визначення ПХБ у різних жирових матрицях за методом ГХ-МС з використанням варіантів модифікацій пробопідготовки QuEChERS показало задовільні результати точності методики (повернення ПХБ у середньому становить 80 – 110 % та RSD ≥ 15 %) [16, 24, 25].

Отже, отримані нами дані показали задовільні результати екстракції 6-ти поліхлорованих біфенілів (ПХБ 28, ПХБ 52, ПХБ 101, ПХБ 153, ПХБ 138 та ПХБ 180) у соняшниковій олії з використанням як екстрагента суміші розчинників ацетонітрil : гексан : дихлорметан (100:20:20) на першому етапі модифікованої пробопідготовки QuEChERS.

- для отриманих значень концентрацій

Отримані результати дають підґрунтя для наступних досліджень різних варіантів модифікації пробопідготовки QuEChERS з метою не тільки визначення ПХБ у жирних продуктах, а також інших жиророзчинних стійких органічних забруднювачів, зокрема поліароматичних вуглеводнів та хлорорганічних пестицидів.

Висновки

Розроблена методика з визначення поліхлорованих біфенілів (ПХБ 28, ПХБ 52, ПХБ 101, ПХБ 153, ПХБ 138 та ПХБ 180) у соняшниковій олії методом газорідної хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням за використання модифікованої пробопідготовки QuEChERS показала задовільні метрологічні параметри. Встановлено, що коефіцієнти кореляції (R^2) для ПХБ ≥ 0.995 . Межі виявлення (LOD) та межі кількісного визначення (LOQ) ПХБ нижчі максимально допустимих рівнів встановлених

Європейським Союзом (ЄС). Ступінь випучення ПХБ з соняшникової олії був у межах від 81% до 102%, що вказує на прийнятність (R , 80–120%) запропонованого методу на основі модифікованої пробопідготовки QuEChERS. Відносне стандартне відхилення результатів збіжності знаходиться у межах від 2.2% до 11.5%. Ці значення не перевищують встановлених норм, зазначених у Регламенті ЄС № 589/2014. Результати проведених досліджень дають підстави вважати, що розроблена ГХ–МС методика визначення поліхлорованих біфенілів (ПХБ 28, ПХБ 52, ПХБ 101, ПХБ 153, ПХБ 138 та ПХБ 180) у соняшниковій олії з використанням модифікованої пробопідготовки QuEChERS відповідає вимогам Регламенту комісії (ЄС) № 589/2014 і придатна для використання у профільних хіміко-аналітичних лабораторіях з контролю якості та безпеки продукції агропромислового комплексу.

Література

1. Zashchepkina, N.M.; Markin, M.P.; Tranov, V.V.; Nakonechniy, O.A. Suchasni metody ekspertyzy sonjashnykovoї oliї v tehnologichnomu procesi vinteryzaciї. *Prykladni pytannia materijalnoho modeljuvannia* **2019**, 2(1), 53–65. <https://doi.org/10.32782/2618-0340-2019-3-4> (in Ukr.)
2. DSTU 4492:2017 Olija sonjashnykova. Tekhnichni umovy. K.: Derzhstandart Ukrainy, **2018** (in Ukr.).
3. Khyzhnyak, S.V.; Voitsitskiy, V.M.; Korniyenko, V.I. Polychlorinated biphenyls in the environment and methods of their determination. In *Topical issues of the development of veterinary medicine and breeding technologies: Scientific monograph*. Riga, Latvia: Baltija Publishing, **2022**; 546–570. <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-258-6-17>
4. Panesar, H.K.; Kennedy, C.L.; Keil Stietz, K.P.; Lein, P.J. Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Risk Factors for Autism Spectrum Disorder? *Toxics* **2020**, 8, 70. <https://doi.org/10.3390/toxics8030070>
5. Abolghasemi, M.; Esmaeilzadeh, S.; Mirabi, P.; Golsorkhtabaramiri, M. Human Exposure to Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and The Risk of Endometriosis: A Systematic Review and Meta-Analysis Protocol. *Int. J. Prev. Med.* **2021**, 12, 108. DOI: 10.4103/ijpvm.IJPVM_178_19
6. Zani, C.; Toninelli, G.; Filisetti B.; Donato, F. Polychlorinated Biphenyls and Cancer: An Epidemiological Assessment. *J. Env. Sci. and Health, Part C*, **2013**, 31 (2), 99–144. <https://doi.org/10.1080/10590501.2013.782174>
7. Commission Regulation (EU) No 1259, 2011. Commission Regulation (EU) No 1259/2011 of 2 December 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and non dioxin-like PCBs in foodstuffs. *Off. J. Eur. Union*. **2011**, 3, 18–23.

8. Levchuk, I.V. Vyznachennja polihlorovanyh bifeniliv (PHB) v olijah ta zhyrah. *Integrovani tehnologii ta energoberezhennja*. **2014**, 1, 113–120. (in Ukr.)
9. BS EN 1528-3:1997 Fatty food. Determination of pesticides and polychlorinated biphenyls (PCBs) Clean-up methods.
10. Chmil, V.D.; Golohova, O.V.; Vydrin, D.Ju. Perspektyvy vykorystannja metodu KETChERS (QuEChERS) dlja ocinky toksykologichnoї bezpeky harchovyh produktiv. *Problemy harchuvannja*. **2016**, 2(1), 70–78. (in Ukr.)
11. Baranov, Yu.S.; Demchenko, V.F.; Zemtsova, O.V. Multiresidues methods of pesticides determination in Ukraine. *Zurnal Hromatograficnogo tovarystva*. **2018**, XVIII, 5–16. <https://doi.org/10.15407/zht201824005> (in Ukr.)
12. Li, S.; Zhang, C.; Tang H.X.; Gu, Yu; Guo, A.-J.; Wang, K.; Lian, K.-Q. Determination of 24 sulfonamide antibiotics in instant pastries by modified QuEChERS coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Food Drug Anal.* **2023**, 31(1), 73–84. <https://doi.org/10.38212/2224-0119.3434>
13. Bayer, O.V.; Mykhalska, O.V.; Bondarets, O.V.; Yaremchuk, L.V.; Skeromna, O.I.; Midyk, S.V.; Shevchenko, L.V.; Mykhalska, V. M.; Stupak, O.M.; Liniichuk, N.V. Evaluation of Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry for Determination of Avermectin Residues in Milk. *Ukr. J. Ecology* **2019**, 9(4), 521–526. DOI:10.15421/2019_784
14. Bayer, O.V.; Bondarets, O.V.; Mykhalska, V.M.; Shevchenko, L.V.; Stupak, O.M.; Fesenko, J.V.; Dovgopol, Y.V.; Liniichuk, N.V.; Kovalenko, V.L.; Galka, I.V.; Kryvenok, M.J.; Poliakovskyi, V.M. Evaluation of QuEChERS Sample Preparation for Determination of Benzimidazoles Residues in Meat by UPLC-MS/MS. *Methods Objects Chem. Anal.*, **2021**, 16(1), 32–40.

<https://doi.org/10.17721/moca.2021.32-40>

15. Senin, S.A.; Midyk, S.V.; Korniyenko, V.I.; Konovalova, O.Yu.; Berezovskyi, O.V.; Ladohubets, E.V.; Harkusha, I.V. Determination of Mycotoxins in Wheat Grain by LC-MS/MS using Modified QuEChERS Sample Preparation. *Methods Objects Chem. Anal.*, **2023**, *18*(1), 22-28. <https://doi.org/10.17721/moca.2023.22-28>

16. Kiani, A.; Arabameri, M.; Shariatifar, N.; Mehraie, A.; Tooryan, F.; Ghanbariasad, A.; Shahsavari, S. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCBs) in dairy products by modified QuEChERS/GC-QqQ-MS/MS method: A risk assessment study. *Food Sci. Nutr.* **2023**, *11*(6), 2895–2906. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3269>

17. Tidiane Dione, C.; Dethienne, O.; Diagne, I.; Diebakate, C.; Ndiaye, B.; Cisse, D.; Hane, M.; Dione, M.M.; Diouf, S.; Diop, A.; Ndiaye, M.; Millet, M. Application of the QuEChERS method for the determination of pesticides, PAHs and PCBs in fish in Senegal. *J. Environ. Sci. Health - Tox. Hazard Subst. Environ. Eng.* **2022**, *57*(12), 1669–1679. DOI: 10.1080/10934529.2022.2123188

18. Choi, B.-S.; Lee, D.-U.; Kim, W.-S.; Park, C.-W.; Choe, W.-J.; Moon, M.-J. Simultaneous Screening of 322 Residual Pesticides in Fruits and Vegetables Using GC-MS/MS and Deterministic Health Risk Assessments. *Foods* **2023**, *12*, 3001. <https://doi.org/10.3390/foods12163001>

19. Zemtsova, O.V.; Maxymchuk, I.S.; Baranov, Yu.S.; Bilous, A.O.; Kuchma, P.A.; Brodetska, O.M.; Zacharevych, D.S. Vykorystannja metodologii 'QuEChERS dlja rozrobky metodyk vyznachennja masovoi koncentracii pestycydiv u roslynnyh olijah ta olijevmisnij syrovyni. *Zurnal Hromatograficnogo tovarystva* **2017**, *XVII*, 9–15. DOI: 10.15407/zht2017.63.009 (in Ukr.)

20. Commission Regulation (EU) No 589, 2014.

Commission Regulation (EU) No 589/2014 of 2 June 2014 laying down methods of sampling and analysis for the control of levels of dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in certain foodstuffs and repealing Regulation (EU) No 252/2012. *Off. J. Eur. Union*. **2014**, *3*, 18–40.

21. Commission Decision of 14 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (notified under document number C (2002) 3044), text with EEA relevance 2002/657/EC. *Off. J. Eur. Union*. **2002**, L 221, 8–36.

22. DIN EN 15662:2018 Foods of plant origin. Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE. Modular QuEChERS-method. Berlin: Cen-Cenelec Management Centre, 2018.

23. Directive 96/23/EC of 29 April 1996 on measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products and repealing Directives 85/358/EEC and 86/469/EEC and Decisions 89/187/EEC and 91/664/EEC.

24. Ostadgholami, M.; Zeeb, M.; Amirahmadi, M.; Daraei, B. Multivariate Optimization and Validation of a Modified QuEChERS Method for Determination of PAHs and PCBs in Grilled Meat by GC-MS. *Foods* **2024**, *13*, 143. <https://doi.org/10.3390/foods13010143>

25. Eghbaljoo, H.; Rezvani Ghalhari, M.; Shariatifar, N.; Jahed Khaniki, G.; Molaei Aghaee, E.; Aghajeh Sani, M.; Mansouri, E.; Arabameri, M. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCBs) in edible oils using the QuEChERS/GC-MS method: A health risk assessment study. *Heliyon* **2023**, *9* (11), e21317. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21317>