

УДК 543.054

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ИНСЕКТИЦИДА ПИМЕТРОЗИНА В ВОДЕ, ПОЧВЕ, ОГУРЦЕ И РАПСЕ

М. Ф. ЗАЯЦ¹⁾, С. М. ЛЕЩЁВ¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

На основании литературных данных по растворимости пиметрозина в воде и органических растворителях, а также экспериментальных данных по извлечению пиметрозина из воды, почвы, растительных матриц различными экстрагентами были подобраны оптимальные условия экстракции пиметрозина из воды, почвы, плодов огурца, семян, масла и зеленых стручков рапса, а также условия очистки экстрактов. На первой стадии для извлечения пестицида применяли ацетонитрил, смесь дихлорметан – изопропанол или смесь дихлорметан – метанол в присутствии неорганических солей и без них. Обнаружено, что пиметрозин является сильногидрофильным веществом. Для очистки экстрактов растительного материала были успешно использованы экстракционные системы гексан – 0,02 моль/л водный раствор ортофосфорной кислоты, гексан или хлороформ – водные растворы сульфата аммония. В результате такой обработки получались достаточно чистые образцы, что позволило определять в них остаточные количества пиметрозина на максимально допустимом уровне, установленном в России и странах Европейского союза, или ниже с помощью широко распространенной жидкостной хроматографии с динамическим детектированием.

Ключевые слова: жидкостная экстракция; пиметрозин; методика пробоподготовки; жидкостная хроматография; вода; почва; огурец; рапс.

THE DEVELOPMENT OF METHODS FOR THE DETERMINATION OF RESIDUES OF THE INSECTICIDE PYMETROZINE IN WATER, SOIL, CUCUMBER AND RAPE

М. Ф. ЗАЯЦ^a, С. М. ЛЕЩЁВ^a

^aBelarusian State University, 4 Nizaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: M. F. Zayats (mikhail_zayats@tut.by)

Based on the literature data on the solubility of pymetrozine in water and organic solvents, as well as experimental data on the extraction of pymetrozine from water, soil and plant matrices, the optimal conditions for the extraction of pymetrozine from water; soil; cucumber; rape seeds, oil and green pods were selected. The conditions for cleaning

Образец цитирования:

Заяц МФ, Лещёв СМ. Разработка методик определения остаточных количеств инсектицида пиметрозина в воде, почве, огурце и рапсе. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2019;2:79–87.
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2019-2-79-87>

For citation:

Zayats MF, Leschev SM. The development of methods for the determination of residues of the insecticide pymetrozine in water, soil, cucumber and rape. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2019;2:79–87. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2019-2-79-87>

Авторы:

Михаил Федорович Заяц – кандидат химических наук; заведующий кафедрой аналитической химии химического факультета.
Сергей Михайлович Лещёв – доктор химических наук; профессор кафедры аналитической химии химического факультета.

Authors:

Mikhail F. Zayats, PhD (chemistry); head of the department of analytical chemistry, faculty of chemistry.
mikhail_zayats@tut.by
Sergey M. Leschev, doctor of science (chemistry); professor at the department of analytical chemistry, faculty of chemistry.
leschev.sergey54@gmail.com

extracts were selected as well. At the first stage, acetonitrile, a mixture of dichloromethane – isopropanol, or a mixture of dichloromethane – methanol in the presence or absence of inorganic salts were used for extraction of the pesticide. Pymetrozine was found to be a highly hydrophilic substance. For the purification of extracts of pymetrozine from plant matrices the extraction systems hexane – 0.02 mol/L aqueous solution of orthophosphoric acid, hexane or chloroform – aqueous solutions of ammonium sulfate were successfully used. The samples, obtained after this treatment, were pure enough to determine the residual amounts of pymetrozine in them at the maximum residue level (MRL), determined in Russia and the countries of the European Union, or lower using widespread liquid chromatography with diode-array (ultraviolet) detection.

Keywords: solvent extraction; pymetrozine; sample preparation method; liquid chromatography; water; soil; cucumber; rape.

Введение

Одним из пестицидов, проходящим регистрационные испытания в Беларуси, является инсектицид «Пленум», ВДГ (500 г/кг пиметрозина) производства АО «Сингента АгроСервис АГ» (Швейцария, представительство в Беларуси). Ввиду отсутствия адаптированных в Беларуси методик определения остаточных количеств входящего в его состав пиметрозина (рис. 1) необходимо было провести соответствующую процедуру. Пиметрозин является сильнополярным, нелетучим, термически нестабильным веществом и разлагается до достижения температуры плавления, поэтому его обычно определяют методом жидкостной хроматографии [1–16].

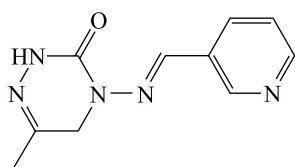


Рис. 1. Структурная формула пиметрозина

Fig. 1. The structural formula of pymetrozine

Наличие в молекуле пиметрозина хромофоров позволяет использовать для его детектирования широко распространенный и относительно дешевый ультрафиолетовый или диодно-матричный детектор. Были разработаны способы анализа огурцов [1; 8], томатов и перцев [1], табака [1; 5; 16], растений *Aster scaber* [2] на содержание пиметрозина с нижними пределами определения от 0,01 до 0,5 мг/кг. При этом в зависимости от природы матрицы и уровня добавки пиметрозина степень извлечения была непостоянной и изменялась в пределах от 62 до 122 % [1]. Возможной причиной этого являлось проведение длительной (~8 ч) многостадийной пробоподготовки, заключающейся в экстракции метанолом в присутствии бората натрия, упаривании, очистке на колонках, наполненных диатомитом [1; 2], силикагелем [1], флорисилом [2], картриджах с фазами C18 и PSA [5] или с помощью жидкостной экстракции [16].

Стоит отметить, что имелись единичные попытки определять пиметрозин в экстрактах красного перца методом газовой хроматографии (ГХ) с азотно-фосфорным детектором и подтверждением методом масс-спектрометрии (МС). При этом наблюдался довольно сильный (+82 %) матричный эффект [17].

Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с высокоселективными высокочувствительными tandemными масс-спектрометрическими (MC/MC) детекторами для определения микроколичеств пиметрозина позволило значительно упростить пробоподготовку растительных матриц и объектов окружающей среды [3; 4; 6; 7; 9; 11–15]. При этом она сводилась к экстракции ацетонитрилом из различных объектов в присутствии хлорида натрия и безводного сульфата магния с последующей очисткой методом дисперсионной твердофазной экстракции сорбентами C18, PSA, графитизированной сажей, оксидом циркония, нанесенным на силикагель в присутствии безводного сульфата магния. Отличия в методиках заключались в использовании или неиспользовании добавок солей (цитратов натрия или ацетата натрия) для поддержания необходимого pH при экстракции и в количестве и природе сорбентов для очистки ацетонитильных экстрактов.

Методом ВЭЖХ-МС/МС пиметрозин определяли в молоке [3], красном вине [4], винограде, латуке и апельсинах [6; 7], авокадо и миндале [9], марихуане [10], хмеле [11], паприке [12], яблочно-голубичном пюре, зеленом горошке и лайме [13], воде, почве, зерне и соломе риса [14], шпинате [15].

Стоит отметить, что, несмотря на значительный прогресс в упрощении и ускорении методов пробоподготовки при определении пиметрозина с помощью ВЭЖХ-МС/МС, извлечение пестицида из анализируемых объектов часто представляется сложной задачей. Так, степень такого извлечения из растительных матриц редко доходит до минимально требуемых по SANTE/11813/2017 [18] 70 % [6; 7; 9; 12; 13; 15]. При этом сохраняются проблемы нестабильности степени извлечения и значительного влияния компонентов матрицы на подавление или усиление сигнала анализа [6; 7; 9; 12; 13; 15], что затрудняет проведение корректных количественных расчетов.

Исходя из физико-химических свойств пиметрозина (высокогидрофильное слабое органическое основание), а также из литературных и экспериментальных данных, отметим, что для эффективного извлечения пиметрозина из водной фазы и растительных объектов следует использовать высаливание и активные полярные органические растворители, а также избегать кислой среды.

С учетом имеющихся проблем при пробоподготовке растительных и природных объектов, а также недоступности для подавляющего большинства лабораторий Беларуси дорогостоящего хромато-масс-спектрометрического оборудования по-прежнему актуальными остаются вопросы разработки простых методик пробоподготовки воды, почвы, огурцов и рапса для определения остаточных количеств пиметрозина на имеющемся хроматографическом оборудовании.

Экспериментальная часть

Реактивы. Использовались аналитический стандарт пиметрозина фирмы *Сингента* (Швейцария) с содержанием основного вещества 99,5 %, ацетонитрил для градиентной ВЭЖХ, метанол для градиентной ВЭЖХ, изопропанол «х. ч.», гексан «х. ч.», метилен хлористый «х. ч.», хлороформ «х. ч.», аммоний сернокислый «ч. д. а.», натрий сернокислый «х. ч.», натрий углекислый кислый «х. ч.», кислота ортофосфорная (85 %). Деионизированную воду получали с помощью системы подготовки воды Direct-Q 3 UV System (*Millipore*, США).

Оборудование. Хроматографический анализ проводился на высокоэффективном жидкостном хроматографе HP 1100 (*Hewlett Packard*, США) с диодно-матричным детектором и программным обеспечением *HP ChemStation*. Хроматографическое разделение осуществлялось на стальной колонке длиной 25 см с внутренним диаметром 2,1 мм, заполненной фазой XBridge BEH300 C18 с размером частиц 5 мкм.

Условия хроматографирования. Подвижная фаза № 1 для ВЭЖХ: 0,02 моль/л раствор фосфорной кислоты в деионизированной воде. Подвижная фаза № 2 для ВЭЖХ: ацетонитрил для градиентной ВЭЖХ. Скорость потока элюента 0,2 мл/мин.

При анализе масла озимого рапса элюирование проводили в изократическом режиме при объемном соотношении подвижных фаз № 1 и 2, равном 97 : 3. В данных условиях время удерживания пиметрозина составляло $(6,5 \pm 0,1)$ мин, общее время анализа – 20 мин.

В случае анализа воды, почвы, огурцов, зеленых стручков и семян озимого рапса элюирование проводили в градиентном режиме. С момента ввода пробы до 1,0 мин элюент состоял на 100 % из подвижной фазы № 1. Далее в течение 3,0 мин содержание подвижной фазы № 2 увеличивали с 0 до 20 % и поддерживали постоянным до 12,0 мин; потом на протяжении 2,0 мин содержание подвижной фазы № 2 увеличивали до 100 % и поддерживали постоянным до 18,0 мин; затем уменьшали до 0 % в течение 0,5 мин и далее поддерживали постоянным. В данных условиях время удерживания пиметрозина составляло $(11,2 \pm 0,3)$ мин, общее время анализа – 30 мин.

Общие условия для обоих методов: температура колонки 35 °C, рабочая длина волны 304 нм.

Для построения градуировочного графика в инжектор хроматографа вводили по 20 мкл рабочего стандартного раствора пиметрозина с концентрациями 20,0; 5,00; 2,00; 0,500; 0,200; 0,100 и 0,0500 мкг/мл. Осуществляли не менее трех параллельных измерений и находили среднее значение площади хроматографического пика для каждой концентрации. Строили градуировочный график зависимости площадей хроматографических пиков от концентрации соединений в растворе (мкг/мл).

Идентификацию пиметрозина проводили по сопоставлению времени удерживания пика на хроматограмме с временем удерживания пика стандартного вещества.

При данных условиях линейный диапазон детектирования пиметрозина составлял 1,00–400,0 нг, что при объеме ввода пробы 20 мкл соответствует концентрации пиметрозина в анализируемом растворе 0,0500–20,0 мг/л. Коэффициенты детерминации R^2 градуировочных графиков были не менее 0,999.

Количественное определение проводили методом абсолютной калибровки.

Разработка методик пробоподготовки

Разработка методик пробоподготовки воды, почвы, огурцов и рапса для определения остаточных количеств пиметрозина заключалась в выборе условий экстракции для максимально полного и селективного извлечения пестицида из анализируемых матриц, а также условий очистки экстрактов от мешающих последующему хроматографическому анализу матричных компонентов.

Данные по растворимости пиметрозина в воде и органических растворителях [19] показывают, что пиметрозин является сильногидрофильным веществом (табл. 1), при этом он нестабилен в водных растворах в кислой среде.

Таблица 1

Некоторые физико-химические свойства пиметрозина

Table 1

Some physico-chemical properties of pymetrozine

Свойство	Значение
Растворимость в воде при 25 °C, мг/л:	
pH 5	320
pH 7	270
pH 9	270
Растворимость в органических растворителях при 25 °C, мг/л:	
гексан	Менее 1
толуол	34
дихлорметан	1200
этанол	2400
n-октанол	450
ацетон	94
этилацетат	1200
Логарифм коэффициента распределения в системе n-октанол – вода ($\lg P_{ow}$):	
чистая вода	-0,18
pH 5	-0,24
pH 7	-0,19
pH 9	-0,20
Гидролитическая стабильность (DT_{50}) при 25 °C, дней:	
pH 5	5–12
pH 7	616–800
pH 9	510–1210
Фотостабильность (DT_{50}) при 25 °C и pH 7, дней	4,3–6,8

Источник: [19].

Извлечению сильногидрофильных веществ из воды обычно помогает использование сильных высаливателей [20]. Последние, в свою очередь, при большой концентрации в водных растворах позволяют применять сильнополярные экстрагенты [20], которые смешиваются с водой при отсутствии солей.

При извлечении пиметрозина из воды в качестве высаливателя использовали сульфат аммония в концентрации, близкой к насыщению, в качестве полярного экстрагента – изопропиловый спирт. Для снижения концентрации воды в равновесной спиртовой фазе спирт разбавляли дихлорметаном в объемном соотношении 1 : 1. По сравнению с более высокомолекулярными спиртами данную смесь можно концентрировать упариванием на роторном вакуумном испарителе при относительно небольшой температуре (~40 °C). Получаемый таким способом образец не требует дополнительной очистки для корректного хроматографического определения пиметрозина.

Из измельченных **плодов огурца** пиметрозин также успешно извлекали смесью изопропанол – дихлорметан в объемном соотношении 1 : 1. Для отделения основной массы воды и улучшения разделения на фазы применяли добавку безводного сульфата натрия. Можно использовать и добавку сульфата аммония, однако при этом образуется довольно устойчивая эмульсия, что приводит к необходимости дополнительного центрифугирования. После упаривания экстракта досуха, растворения сухого остатка в воде и фильтрации образец также анализировали без дополнительной очистки методом ВЭЖХ с одной матрицей.

Извлечение пиметрозина из **зеленых стручков озимого рапса** проводили аналогично извлечению из плодов огурца. Разница заключалась в отсутствии необходимости добавлять соль на стадии экстракции из анализируемой матрицы, содержащей меньшее количество воды. В то же время получаемые экстракты содержали довольно много матричных компонентов, препятствующих корректному количественному определению пиметрозина. Поэтому требовалась дополнительная очистка. Для отделения гидрофобных (менее гидрофильных) веществ использовали промывку экстракта, растворенного в 10 %

водном растворе сульфата аммония гексаном. Далее концентрацию сульфата аммония в водном растворе повышали и пиметрозин экстрагировали хлороформом. Дальнейшие процедуры (упаривание, растворение, фильтрование) аналогичны пробоподготовке огурцов.

Для извлечения из почвы сильногидрофильных веществ можно применять различные варианты жидкостной экстракции – от редко встречающейся экстракции водой и полярными органическими растворителями до наиболее популярной экстракции водно-органическими смесями как в присутствии высаливателей, так и без них. Основной задачей добавок воды к органическим растворителям является снижение сорбционной активности полярных центров почвы для увеличения полноты экстракции веществ. В данной работе для извлечения пиметрозина успешно использовалась двукратная экстракция смесью ацетонитрила и 5 % раствора гидрокарбоната натрия, создающего слабую щелочную среду для стабилизации молекулярной формы пиметрозина. Объединенный экстракт упаривали до водной фазы, имевшей небольшой объем. Далее пиметрозин извлекали дихлорметаном, экстракт упаривали досуха, сухой остаток растворяли в воде, раствор фильтровали и анализировали без дополнительной очистки методом ВЭЖХ с диодной матрицей.

Из масла озимого рапса пиметрозин, как и сильногидрофильные неоникотиноиды [21], хорошо извлекается не смешивающимся с ним и легко упариваемым ацетонитрилом. Очистить экстракт от остаточного количества матричных компонентов достаточно просто с использованием системы гексан – слабый водный раствор кислоты. Подкисление необходимо для предотвращения пенообразования. При этом кислоту лучше брать ту, которая применялась для приготовления подвижной фазы для ВЭЖХ.

Среди используемых экстракционных смесей (ацетонитрил, метанол, смеси дихлорметана с изопропанолом и метанолом в различном соотношении) для извлечения пиметрозина из семян озимого рапса лучшие результаты по извлечению и «чистоте» получаемых экстрактов показала смесь дихлорметан – метанол (4 : 1 по объему). Из маслянистого остатка, получаемого после упаривания, пиметрозин извлекают ацетонитрилом и очищают далее аналогично процедуре пробоподготовки рапсового масла. Таким образом, пробоподготовка анализируемых объектов заключалась в следующем.

Пробоподготовка воды, почвы и растительной продукции

Образец воды объемом 240 мл наливают в плоскодонную колбу объемом 500 мл, добавляют 160 г сульфата аммония и помещают в перемешивающее устройство до полного растворения соли (5–10 мин). Пиметрозин извлекают тремя порциями по 50 мл смеси дихлорметан – изопропанол (1 : 1 по объему) в течение 10 мин в перемешивающем устройстве при 150 об/мин и (20 ± 5) °C. Экстракты объединяют в круглодонной колбе на 250 мл и упаривают на роторном вакуумном испарителе при температуре 40 °C до ~5 мл. Упаренный экстракт переносят в грушевидную 50-миллилитровую колбу двумя порциями по 10 мл дихлорметана, упаривают до ~0,5 мл на роторном вакуумном испарителе при температуре 40 °C и выдувают досуха в токе воздуха.

Сухой остаток в грушевидной колбе растворяют в 2 мл бидистиллированной воды, фильтруют в пробирку объемом 5 мл через тефлоновый фильтр для ВЭЖХ с диаметром пор 0,20 или 0,45 мкм. Аликвоту фильтрата (20 мкл) вводят в хроматограф.

Образец почвы массой 20 г помещают в плоскодонную колбу объемом 250 мл, добавляют 10 мл 5 % раствора гидрокарбоната натрия, 50 мл ацетонитрила и экстрагируют на аппарате для встряхивания 30 мин при 150 об/мин и 25 °C. Экстракт фильтруют через «синюю ленту» в круглодонную 250-миллилитровую колбу. Экстракцию повторяют еще раз в течение 30 мин, используя 5 мл 5 % раствора гидрокарбоната натрия и 50 мл ацетонитрила. Экстракт фильтруют через тот же фильтр. Образец почвы промывают 15 мл ацетонитрила и фильтруют через тот же фильтр. Объединенный экстракт упаривают до водной фазы. Пиметрозин извлекают тремя порциями по 5 мл дихлорметана, экстракты объединяют и упаривают до ~0,5 мл на роторном вакуумном испарителе при температуре 40 °C и выдувают досуха в токе воздуха.

Сухой остаток в грушевидной колбе растворяют в 1 мл бидистиллированной воды, фильтруют в пробирку объемом 5 мл через тефлоновый фильтр для ВЭЖХ с диаметром пор 0,20 или 0,45 мкм. Аликвоту фильтрата (20 мкл) вводят в хроматограф.

Образец плодов огурца массой 20,0 г помещают в плоскодонную колбу объемом 250 мл, добавляют 15 г безводного сульфата натрия. Пиметрозин извлекают двумя порциями по 50 мл смеси дихлорметан – изопропанол (1 : 1 по объему) в течение 30 мин в перемешивающем устройстве при 150 об/мин и (20 ± 5) °C. Экстракты фильтруют через целлюлозный фильтр «синяя лента», объединяют в круглодонной 250-миллилитровой колбе. Образец плодов огурца промывают 20 мл смеси дихлорметан – изопропанол (1 : 1 по объему) и фильтруют через тот же фильтр в круглодонную колбу объемом

250 мл. Объединенный экстракт упаривают на роторном вакуумном испарителе при температуре 40 °C до ~5 мл. Упаренный экстракт переносят в грушевидную 50-миллилитровую колбу двумя порциями по 10 мл дихлорметана, упаривают до ~0,5 мл на роторном вакуумном испарителе при температуре 40 °C и выдувают досуха в токе воздуха.

Сухой остаток в грушевидной колбе растворяют в 2 мл бидистиллированной воды, фильтруют в пробирку объемом 5 мл через тефлоновый фильтр для ВЭЖХ с диаметром пор 0,20 или 0,45 мкм. Аликвоту фильтрата (20 мкл) вводят в хроматограф.

Образец **зеленых стручков озимого рапса** массой 20,0 г помещают в плоскодонную колбу объемом 250 мл и извлекают пиметрозин тремя порциями по 60 мл смеси дихлорметан – изопропанол (1 : 1 по объему) в течение 20 мин в перемешивающем устройстве при 150 об/мин и (20 ± 5) °C. Экстракты пропускают через фильтр «синяя лента» в круглодонную 250-миллилитровую колбу. Объединенный экстракт упаривают до ~10 мл и переносят в грушевидную колбу объемом 50 мл. Круглодонную колбу промывают дважды по 5 мл смеси дихлорметан – изопропанол (1 : 1 по объему), смыв объединяют с экстрактом в грушевидной колбе. Экстракт упаривают до ~0,5 мл на роторном вакуумном испарителе при температуре 40 °C и выдувают досуха в токе воздуха.

К сухому остатку в грушевидной колбе добавляют 5 мл гексана и перемешивают до растворения сухого остатка. Пиметрозин извлекают тремя порциями по 5 мл 10 % водного раствора сульфата аммония в течение 2 мин. К объединенному в 50-миллилитровой грушевидной колбе водно-солевому экстракту добавляют 6 г сульфата аммония и перемешивают до полного растворения соли. Из полученного раствора пиметрозин извлекают двумя порциями по 12 мл хлороформа, встряхивая колбы в течение 2 мин. Объединенные хлороформные экстракты в грушевидной колбе на 50 мл упаривают на роторном вакуумном испарителе при температуре 40 °C до ~0,5 мл и выдувают досуха в токе воздуха.

Сухой остаток в грушевидной колбе растворяют в 2 мл десорбированной воды, фильтруют в пробирку на 5 мл через тефлоновый фильтр для ВЭЖХ с диаметром пор 0,20 или 0,45 мкм. Аликвоту фильтрата (20 мкл) вводят в хроматограф.

Образец **масла озимого рапса** массой 5 г помещают в грушевидную колбу объемом 50 мл, добавляют 15 мл гексана и перемешивают до растворения масла в гексане. Пиметрозин извлекают двумя порциями по 5 мл ацетонитрила в течение 2 мин. Экстракты объединяют в грушевидной 50-миллилитровой колбе, упаривают на роторном вакуумном испарителе при температуре 40 °C до ~0,5 мл и выдувают досуха в токе воздуха.

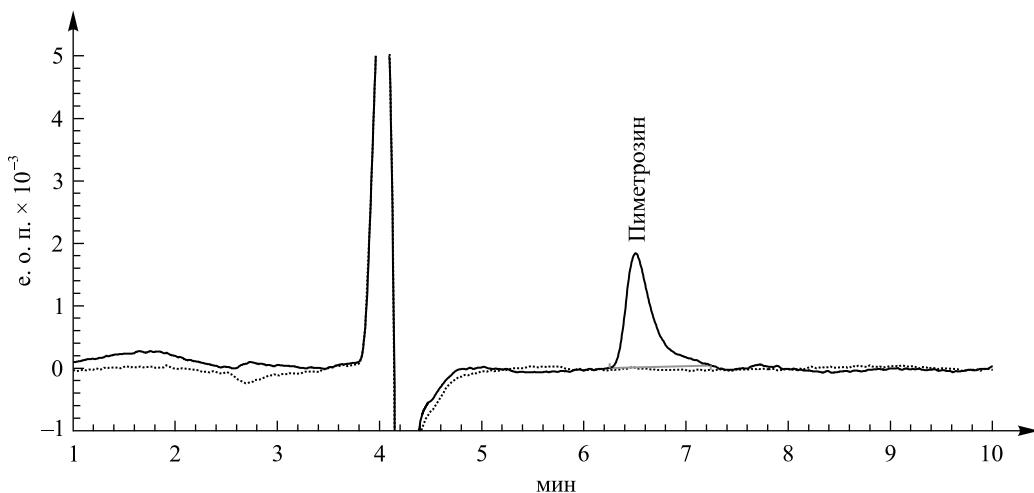
Сухой остаток в грушевидной колбе растворяют в 1 мл гексана, добавляют 1 мл 0,02 моль/л раствора ортофосфорной кислоты в десорбированной воде и встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний водный слой фильтруют в пробирку объемом 5 мл через тефлоновый фильтр для ВЭЖХ с диаметром пор 0,20 или 0,45 мкм. Аликвоту фильтрата (20 мкл) вводят в хроматограф.

Образец **семян озимого рапса** массой 10 г помещают в плоскодонную колбу объемом 250 мл, и пиметрозин экстрагируют двумя порциями по 50 мл смеси дихлорметан – метанол (4 : 1 по объему) в течение 30 мин в перемешивающем устройстве при 150 об/мин и (20 ± 5) °C. Экстракты пропускают через фильтр «синяя лента» в круглодонную 250-миллилитровую колбу. Образец семян промывают 10 мл дихлорметана, который затем фильтруют через тот же фильтр. Объединенный экстракт упаривают до ~10 мл. Упаренный экстракт переносят в грушевидную колбу объемом 50 мл. Круглодонную колбу ополаскивают 10 мл дихлорметана, который объединяют в грушевидной колбе. Объединенный дихлорметановый раствор упаривают до масла (~3 мл) на роторном вакуумном испарителе при температуре 40 °C.

Добавляют 15 мл гексана к маслу в грушевидной колбе и перемешивают до растворения последнего. Пиметрозин извлекают двумя порциями по 5 мл ацетонитрила в течение 2 мин. Экстракты объединяют в грушевидной 50-миллилитровой колбе, упаривают на роторном вакуумном испарителе при температуре 40 °C до ~0,5 мл и выдувают досуха в токе воздуха.

Сухой остаток в грушевидной колбе растворяют в 1 мл гексана, добавляют 2 мл 0,02 моль/л раствора ортофосфорной кислоты в десорбированной воде и встряхивают в течение 2 мин. После полного разделения фаз нижний водный слой фильтруют в пробирку на 5 мл через тефлоновый фильтр для ВЭЖХ с диаметром пор 0,20 или 0,45 мкм. Аликвоту фильтрата (20 мкл) вводят в хроматограф.

Получаемые после очистки образцы достаточно чистые, чтобы можно было определять остаточные количества пиметрозина на максимально допустимом уровне (МДУ), установленном в России [22] и странах Европейского союза [23] (в Беларуси МДУ не установлен [24]), или ниже с помощью широко распространенной жидкостной хроматографии с диодно-матричным (ультрафиолетовым) детектированием (рис. 2, табл. 2).



Rис. 2. Наложенные хроматограммы образцов семян озимого рапса без добавки (пунктирная линия) и с добавкой 0,1 мг/кг пиметроцина (сплошная линия), подготовленных по разработанной методике

Fig. 2. The overlaid chromatograms of samples of winter rape seeds without the addition (dotted line) and with the addition of 0.1 mg/kg of pymetrozine (solid line), prepared according to the developed method

Таблица 2

Метрологические параметры разработанных методик определения пиметроцина в воде, почве и растительной продукции, а также МДУ в России и странах Европейского союза

Table 2

Metrological parameters of the developed methods for determination of pymetrozine in water, soil and plant products, as well as MRLs in Russia and European Union countries

Анализируемый объект	Матрица	МДУ в России и странах ЕС, мг/кг	Метрологические параметры ($p = 0,95, n = 6$)				
			Предел определения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, %	Доверительный интервал среднего, %
Вода	Вода	—	0,001*	0,001–0,04*	86,0	11,0	±8,7
Почва	Почва	—	0,01	0,01–0,5	81,0	10,0	±8,0
Огурец	Плоды	1,0	0,02	0,02–0,5	75,9	3,2	±2,6
Озимый рапс	Семена	0,02	0,02	0,02–1,0	81,7	5,3	±4,2
	Масло	0,02	0,02	0,02–2,0	84,8	3,8	±2,7**
	Зеленые стручки	—	0,02	0,02–0,5	70,5	3,6	±2,9

*Значения приведены в мг/л; **n = 8.

Источники: [22; 23].

Заключение

Таким образом, разработанные методики являются достаточно простыми, надежными, экспрессными (не более 2 ч на 4 образца), дешевыми, характеризуются хорошей точностью, повторяемостью результатов и низкими пределами определения, что позволяет выявлять пиметроцин на уровне МДУ или ниже в исследованных объектах.

Разработанные методики были апробированы и успешно использованы в лаборатории динамики пестицидов РУП «Институт защиты растений» для анализа образцов плодов огурца, а также зеленых стручков, семян и масла рапса на содержание остаточных количеств пиметроцина после применения препарата «Пленум», ВДГ (500 г/кг пиметроцина) на данных культурах.

Библиографические ссылки

1. Joseph TA, Thorn TG, Beidler WT. Analytical method for the determination of CGA-215944 in crops by HPLC [Internet]. Ciba-Geigy analytical method No. AG-643. 1995 November 8 [cited 2019 June 8]. Available from: https://archive.epa.gov/pesticides/methods/rammethods/web/pdf/1999_094mp.pdf.
2. Hong J-H, Lee C-R, Lim J-S, Lee K-S. Comparison of analytical methods and residue patterns of pymetrozine in Aster scaber. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2011;87:649–652. DOI: 10.1007/s00128-011-0407-8.
3. Pesticide residue analysis in whole milk by QuEChERS and LC-MS/MS [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: https://www.spexsampleprep.com/knowledge-base/resources/application_notes/0714-165810-pesticide_residue_analysis_in_whole_milk.pdf.
4. Oliver M. Determination of pesticide residues in red wine using a QuEChERS sample preparation approach and LC-MS/MS detection [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Articles/CMD/Product-Bulletins/XX-Wine-Quality-Essentials-Food-Beverage-Focus-V1-2016-EN.pdf>.
5. Li Yiqiang, Wang Xiuguo, Sun Huiqing, Xu Jinli, Xu Guangjun, Zheng Xiao, inventor. Method for determining pymetrozine residual quantity in tobacco by double column solid-phase extraction-liquid chromatography [Internet]. China patent CN 201310086814. 2013 June 19 [cited 2019 June 8]. Available from: <https://patents.google.com/patent/CN103163266A/en>.
6. AOAC official method 2007.01 pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: http://www.weber.hu/Downloads/SPE/QuEChERS/AOAC_2007_01.pdf.
7. Lehotay SJ. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *Journal of AOAC International*. 2007;90(2):485–520.
8. Talebi K, Ghazizadeh AH. Determination of pymetrozine residues in cucumber. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. 2006;71(2A):75–78.
9. Determination of pesticide residues in avocado and almond by liquid and gas chromatography tandem mass spectrometry [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: [http://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EURL-FV%20\(2013-M11\)Determination%20of%20pesticide%20residues%20in%20high%20oil%20vegetal%20commodities.pdf](http://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EURL-FV%20(2013-M11)Determination%20of%20pesticide%20residues%20in%20high%20oil%20vegetal%20commodities.pdf).
10. Determination of 35 pesticides and 3 cannabinoids in marijuana [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: https://chromspec.com/assets/technical/uct_pesticidesmarijuanaedibles_appnote.pdf.
11. Hengel MJ, Miller M. Analysis of pesticides in dried hops by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56:6851–6856. DOI: 10.1021/jf8009624.
12. Lee SW, Choi J-H, Cho S-K, Yu H-A, Abd El-Aty AM, Shim J-H. Development of a new QuEChERS method based on dry ice for the determination of 168 pesticides in paprika using tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2011;1218(28):4366–4377. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.05.021.
13. Lehotay SJ, Son KA, Kwon H, Koesukwiwat U, Fu W, Mastovska K, et al. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*. 2010;1217(16):2548–2560. DOI: 10.1016/j.chroma.2010.01.044.
14. Li C, Yang T, Huangfu W, Wu Y. Residues and dynamics of pymetrozine in rice field ecosystem. *Chemosphere*. 2011;82(6):901–904. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2010.10.053.
15. Zhao L, Stevens J. Analysis of pesticide residues in spinach using agilent SampliQ QuEChERS EN Kit by LC/MS/MS detection [Internet]. Agilent Technologies publication 5990-4395 EN [cited 2019 June 8]. Available from: <http://www.gimitec.com/file/5990-4395EN.pdf>.
16. Zhang X, Cheng X, Wang C, Xi Z, Li Q. Efficient high-performance liquid chromatography with liquid-liquid partition cleanup method for the determination of pymetrozine in tobacco. *Annali di Chimica*. 2007;97:295–301. DOI: 10.1002/adic.200790015.
17. Jang J, Rahman MM, Ko A-Y, Abd El-Aty AM, Park J-H, Cho S-K, et al. A matrix sensitive gas chromatography method for the analysis of pymetrozine in red pepper: application to dissipation pattern and PHRL. *Food Chemistry*. 2014;146:448–454. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.09.052.
18. SANTE/11813/2017. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed [Internet]. 2017 November 21–22 [cited 2019 June 8]. Available from: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf.
19. Pymetrozine marijuana [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.ViewReview&id=337>.
20. Лещев СМ, Заяц МФ. Константы распределения низших спиртов, ацетона и этилацетата в системах *н*-гексан – водные растворы неорганических солей и природа эффекта высаливания. *Журнал физической химии*. 2012;86(6):1072–1076.
21. Заяц МФ. Разработка экстракционной методики пробоподготовки растительных масел при определении остаточных количеств пестицидов класса неоникотиноидов. *Весці Нацыянальнай акадэміі науک Беларусі. Серыя хімічных наукаў*. 2017;1:57–65.
22. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень). Об утверждении гигиенических нормативов ГН 1.2.3539-18 [Интернет]. Постановление от 10 мая 2018 г. № 33 [цитировано 8 июня 2019 г.]. Доступно по: <http://docs.cntd.ru/document/557532326>.
23. Plants. EU Pesticide Database. Search pesticide residues [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=pesticide.residue.selection&language=EN>.
24. Гигиенические нормативы содержания действующих веществ пестицидов (средств защиты растений) в объектах окружающей среды, продовольственном сырье, пищевых продуктах. Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 27 сентября 2012 г. № 149: Гигиенический норматив. Минск, 2012.

References

1. Joseph TA, Thorn TG, Beidler WT. Analytical method for the determination of CGA-215944 in crops by HPLC [Internet]. Ciba-Geigy analytical method No. AG-643. 1995 November 8 [cited 2019 June 8]. Available from: https://archive.epa.gov/pesticides/methods/rammethods/web/pdf/1999_094mp.pdf.

2. Hong J-H, Lee C-R, Lim J-S, Lee K-S. Comparison of analytical methods and residue patterns of pymetrozine in *Aster scaber*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2011;87:649–652. DOI: 10.1007/s00128-011-0407-8.
3. Pesticide residue analysis in whole milk by QuEChERS and LC-MS/MS [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: https://www.spexsampleprep.com/knowledge-base/resources/application_notes/0714-165810-pesticide_residue_analysis_in_whole_milk.pdf.
4. Oliver M. Determination of pesticide residues in red wine using a QuEChERS sample preparation approach and LC-MS/MS detection [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Product-Bulletins/XX-Wine-Quality-Essentials-Food-Beverage-Focus-V1-2016-EN.pdf>.
5. Li Yiqiang, Wang Xiuguo, Sun Huiqing, Xu Jinli, Xu Guangjun, Zheng Xiao, inventor. Method for determining pymetrozine residual quantity in tobacco by double column solid-phase extraction-liquid chromatography [Internet]. China patent CN 201310086814. 2013 June 19 [cited 2019 June 8]. Available from: <https://patents.google.com/patent/CN103163266A/en>.
6. AOAC official method 2007.01 pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: http://www.weber.hu/Downloads/SPE/QuEChERS/AOAC_2007_01.pdf.
7. Lehotay SJ. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *Journal of AOAC International*. 2007;90(2):485–520.
8. Talebi K, Ghazizadeh AH. Determination of pymetrozine residues in cucumber. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*. 2006;71(2A):75–78.
9. Determination of pesticide residues in avocado and almond by liquid and gas chromatography tandem mass spectrometry [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: [http://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EURL-FV%20\(2013-M11\)Determination%20of%20pesticide%20residues%20in%20high%20oil%20vegetal%20commodities.pdf](http://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EURL-FV%20(2013-M11)Determination%20of%20pesticide%20residues%20in%20high%20oil%20vegetal%20commodities.pdf).
10. Determination of 35 pesticides and 3 cannabinoids in marijuana [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: https://chromspec.com/assets/technical/uct_pesticidesmarijuanaedibles_annotation.pdf.
11. Hengel MJ, Miller M. Analysis of pesticides in dried hops by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008;56:6851–6856. DOI: 10.1021/jf8009624.
12. Lee SW, Choi J-H, Cho S-K, Yu H-A, Abd El-Aty AM, Shim J-H. Development of a new QuEChERS method based on dry ice for the determination of 168 pesticides in paprika using tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2011;1218(28):4366–4377. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.05.021.
13. Lehotay SJ, Son KA, Kwon H, Koesukwiwat U, Fu W, Mastovska K, et al. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A*. 2010;1217(16):2548–2560. DOI: 10.1016/j.chroma.2010.01.044.
14. Li C, Yang T, Huangfu W, Wu Y. Residues and dynamics of pymetrozine in rice field ecosystem. *Chemosphere*. 2011;82(6):901–904. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2010.10.053.
15. Zhao L, Stevens J. Analysis of pesticide residues in spinach using agilent SampliQ QuEChERS EN Kit by LC/MS/MS detection [Internet]. Agilent Technologies publication 5990-4395 EN [cited 2019 June 8]. Available from: <http://www.gimitec.com/file/5990-4395EN.pdf>.
16. Zhang X, Cheng X, Wang C, Xi Z, Li Q. Efficient high-performance liquid chromatography with liquid-liquid partition cleanup method for the determination of pymetrozine in tobacco. *Annali di Chimica*. 2007;97:295–301. DOI: 10.1002/adic.200790015.
17. Jang J, Rahman MM, Ko A-Y, Abd El-Aty AM, Park J-H, Cho S-K, et al. A matrix sensitive gas chromatography method for the analysis of pymetrozine in red pepper: application to dissipation pattern and PHRL. *Food Chemistry*. 2014;146:448–454. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.09.052.
18. SANTE/11813/2017. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed [Internet]. 2017 November 21–22 [cited 2019 June 8]. Available from: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf.
19. Pymetrozine marijuana [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.ViewReview&id=337>.
20. Leschev SM, Zayats MF. Distribution constants of lower alcohols, acetone, and ethyl acetate in *n*-hexane–aqueous solutions of inorganic salt systems and the nature of the salting-out effect. *Zhurnal fizicheskoi khimii*. 2012;86(6):1072–1076. Russian.
21. Zayats MF. Development of the extraction method of sample preparation for determination of neonicotinoid insecticide residues in vegetable oils. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*. 2017;1:57–65. Russian.
22. *Gigienicheskie normativy soderzhaniya pestitsidov v ob'ektakh okruzhayushchey sredy (perechen')*. Ob utverzhdenii gigienicheskikh normativov GN 1.2.3539-18 [Internet]. Postanovlenie ot 10 maya 2018 g. № 33 [cited 2019 June 8]. Available from: <http://docs.cntd.ru/document/557532326>. Russian.
23. Plants. EU Pesticide Database. Search pesticide residues [Internet; cited 2019 June 8]. Available from: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=pesticide.residue.selection&language=EN>.
24. *Gigienicheskie normativy soderzhaniya deistvuyushchikh veshchestv pestitsidov (sredstv zashchity rastenii) v ob'ektakh okruzhayushchey sredy, prodovol'stvennom syr'e, pishchevykh produktakh*. Postanovlenie Ministerstva zdravookhraneniya Respubliki Belarus' ot 27 sentyabrya 2012 g. № 149. Gigienicheskii normativ. Minsk, 2012. Russian.