

УДК 632.951: 632.95.028

МЕТОД СОВМЕСТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АБАМЕКТИНА И ИНДОКСАКАРБА В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУРАХ

© 2022 г. Е. Ю. Алексеев^{1,*}, В. И. Долженко¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
196608 Санкт-Петербург—Пушкин, шоссе Подбельского, 3, Россия

*E-mail: anscreation@yandex.ru

Поступила в редакцию 13.12.2021 г.

После доработки 27.12.2021 г.

Принята к публикации 15.01.2022 г.

Анализ растительных образцов на содержание остаточных количеств пестицидов после обработки сельскохозяйственных культур многокомпонентными препаратами достаточно трудоемкий процесс, поэтому разработка мультиметодов определения остаточных количеств пестицидов в одной пробе является важным направлением. В данной работе была разработана методика совместного определения индоксакарба и абамектина в капусте, сое и картофеле при использовании метода пробоподготовки QuEChERS и метода ВЭЖХ-УФ анализа. Разработанный метод имеет высокую степень извлечения действующих веществ, а также показал практическую значимость при изучении препарата Стилет, МД.

Ключевые слова: пестициды, абамектин, индоксакарб, QuEChERS, ВЭЖХЭ, капуста, соя, картофель.

DOI: 10.31857/S0002188122040032

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что в настоящее время бóльшая часть выращиваемой сельскохозяйственной продукции обрабатывается пестицидами для защиты урожая от вредителей, сорных растений и возбудителей болезней. Однако пестициды являются токсичными веществами для теплокровных животных и человека. Также среди ассортимента химических средств защиты растений выделяется группа препаратов, в состав которых входит не одно, а 2 и более действующих веществ [1].

Анализ растительных образцов на содержание остаточных количеств пестицидов после обработки сельскохозяйственных культур многокомпонентными препаратами достаточно трудоемкий процесс. Для каждого из компонентов по существующим методам анализа проводят отдельную пробоподготовку с последующим качественным и количественным определением [2]. Разработка универсальных методик, которые позволяют совместно определять действующие средства многокомпонентных пестицидов, является приоритетным направлением.

Препарат Стилет, МД (индоксакарб 100 г/л + абамектин 40 г/л), содержит в своем составе

2 действующих вещества – индоксакарб и абамектин. Абамектин относится к авермектинам – инсектицидам и акарицидам, которые получают из почвенных бактерий *Streptomyces avermitilis*. Абамектин – естественный продукт брожения этой бактерии [3], является нейротоксикантом. Абамектин способствует выделению γ -аминомасляной кислоты, что приводит к ингибированию передачи нервного импульса и, как следствие, параличу у насекомых и клещей [4] (рис. 1).

Индоксакарб – химическое действующее вещество пестицидов из класса оксидиазины, используется в сельском хозяйстве и личных подсобных хозяйствах для борьбы с вредными насекомыми. Индоксакарб блокирует движение ионов натрия в каналах нервных клеток, что приводит к параличу и гибели вредителей [6, 7] (рис. 2).

На сегодняшний день в основе большинства современных методик определения остаточных количеств пестицидов лежит метод пробоподготовки QuEChERS. QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe – Быстро, Просто, Дешево, Эффективно, Надежно и Безопасно) – быстрый и эффективный метод, позволяющий извлекать из проб остаточные количества

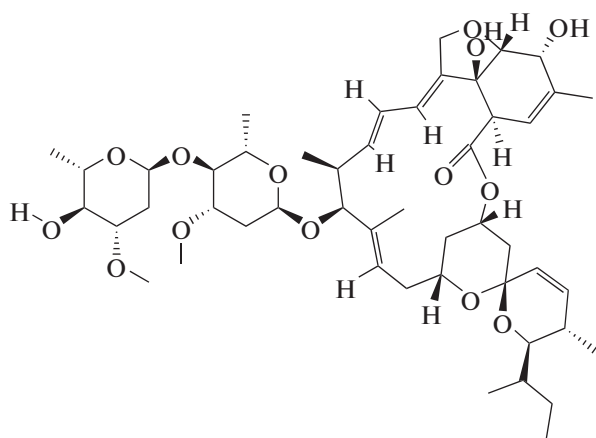


Рис. 1. Структурная формула абамектина (Авермектин В1а) [5].

целевых соединений, удаляя нежелательные помехи, такие как органические кислоты, липиды, пигменты, сахара и другие соединения [9].

Одной из задач исследователей является разработка методов, которые могли бы определять сразу несколько действующих веществ в анализируемом объекте. Такие методы позволяют проводить экотоксикологический анализ быстрее и дешевле. На сегодняшний день существует несколько разработанных методов, которые позволяют одновременно определять десятки пестицидов в различных матрицах [10, 11]. Однако это возможно только с использованием дорогих масс-спектрометрических (МС) детекторов, которые не всегда доступны в большинстве лабораторий. Современные диодно-матричные детекторы, работающие с системой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ-УФ), позволяют идентифицировать разные вещества одновременно, благодаря использованию широкого диапазона длин волн. Существуют методы, позволяющие определять несколько пестицидов с использованием метода детектирования ВЭЖХ-УФ [12, 13]. Однако чаще всего определяемые данными методами пестициды принадлежат одному классу. Стоит отметить, что действующие вещества большинства комбинированных препаратов часто относятся к разным химическим классам. Поэтому разработка быстрых и дешевых мультиметодик по определению остаточных количеств на основе методов QuEChERS и ВЭЖХ-УФ является перспективным направлением.

Цели работы – разработка мультиметода определения остаточных количеств абамектина и индоксакарба в картофеле, капусте, сое и масле сои, а также его апробирование при изучении препарата Стилет, МД.

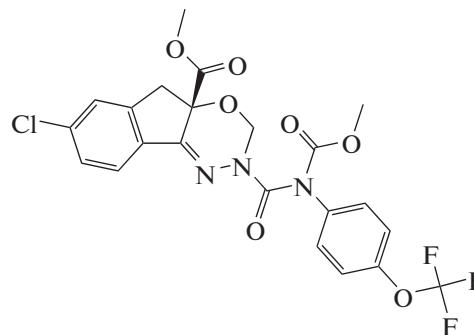


Рис. 2. Структурная формула индоксакарба [8].

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Модифицированный метод пробоподготовки QuEChERS. Навеску измельченной матрицы помещают в полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 см³, последовательно добавляют 10 см³ ацетонитрила и 1 г хлористого натрия. При анализе сои дополнительно добавляют 10 см³ дистиллированной воды. Пробирку плотно закрывают и помещают в перемешивающее устройство на 10 мин, затем центрифугируют в течение 10 мин при скорости 4000 об./мин. От верхнего ацетонитрильного слоя отбирают 5 см³, переносят в центрифужную пробирку вместимостью 15 см³, содержащую 150 мг сорбента на основе силикагеля с привитыми пропиламинными группами (PSA) и 900 мг безводного сульфата магния. Пробирку плотно закрывают и помещают в перемешивающее устройство на 10 мин, затем центрифугируют в течение 10 мин при скорости 4000 об./мин. Далее отбирают 2 см³ экстракта, упаривают досуха и растворяют в 1 см³ смеси ацетонитрил : 0.005 М раствор ортофосфорной кислоты (1 : 1 по объему).

Условия детектирования. Используют ультраэффективный жидкостной хроматограф (“ACQUITY” фирмы Waters) с быстросканирующим УФ-детектором, снабженный дегазатором, автоматическим пробоотборником и термостатом колонки, и аналитическую колонку, заполненную сорбентом с привитыми монофункциональными полярными группами C18 (ACQUITY BEH C-18 (Waters)) (100 × 2.1) мм, 1.7 мкм. Температура колонки – 30 ± 1°С, скорость потока элюента – 0.2 см³/мин, рабочая длина волны УФ-детектора – 310 и 245 нм, объем вводимой пробы – 10 мм³, режим элюирования – градиентный. Элюент А – ацетонитрил, элюент В – 0.005 М раствор ортофосфорной кислоты (табл. 1).

Таблица 1. Схема градиента элюирования

А, %	Поток, см ³ /мин	Время, мин
20	0.2	0
20	0.2	4
75	0.2	5
75	0.2	14

Таблица 2. Полнота извлечения абамектина и индоксакарба в анализированных матрицах

Объект исследования	Доля извлечения абамектина	Доля извлечения индоксакарба
Картофель	90.1 ± 2.6	91.2 ± 2.9
Капуста	87.3 ± 1.9	85.1 ± 3.1
Соя	85.2 ± 3.4	83.8 ± 4.4
Масло сои	86.7 ± 2.4	80.9 ± 3.3

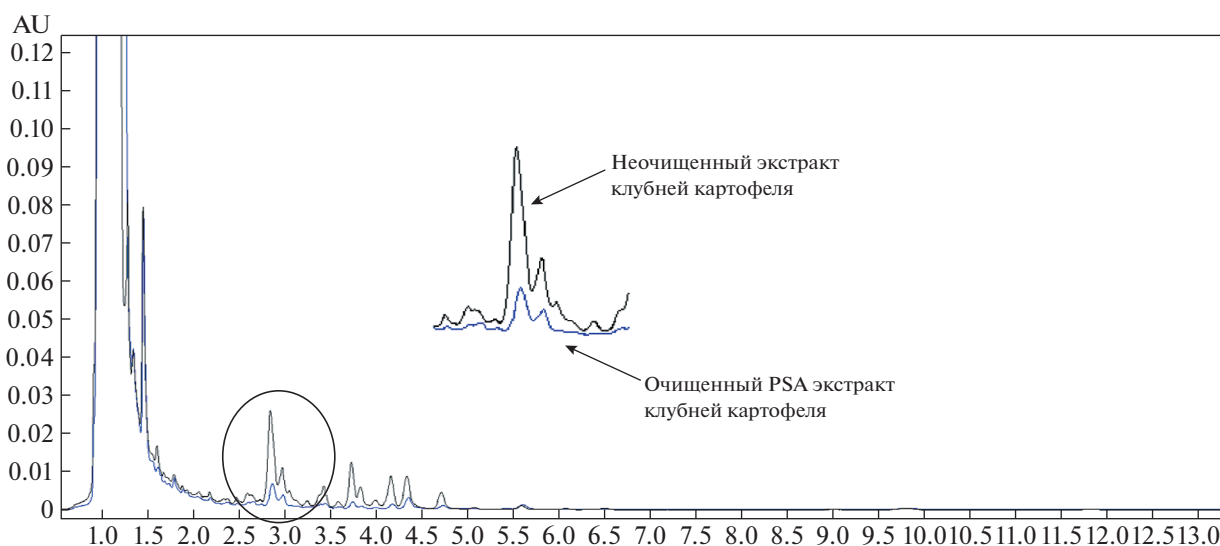
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для первичной экстракции пестицидов из растительных матриц по методу QuEChERS EN 15662 обычно используют следующие соли: безводный сульфат магния, цитратный буфер, состоящий из двухосновного сесквигидрата цитрата натрия и трехосновного дигидрата цитрата натрия, и хлористый натрий. Данные соли повышают ионную силу раствора, создают комфортный для экстракции pH, что увеличивает долю (в %) извлечения аналитов. Однако нами было выдвинуто предположение, что использование дорого-

стоящих реактивов для создания стабильного pH не целесообразно, т.к. исследуемые матрицы не обладают выраженными кислотными или основными свойствами и скорей всего не смогут оказать сильный эффект на процесс экстракции. Также из опыта прошлых исследований было отмечено, что для увеличения эффективности экстракции необходимо, чтобы в системе присутствовала вода. Безводный сульфат магния связывает часть воды, а также может сорбировать на себе некоторые количества действующих веществ. Поэтому было принято решение отказаться от него. Для разделения жидкой и органической фазы добавляется NaCl в количестве 1 г. Данного количества хватает для разделения фаз и повышения ионной силы водного раствора.

Было проведено 2 испытания: первичная экстракция по классическому методу и по модифицированному методу. Первичная экстракция с использованием только NaCl и ацетонитрила показала лучшее извлечение действующих веществ. Поэтому данный вариант был принят за основной.

Так как в пробе присутствует достаточно много сопутствующих веществ (жиры, пигменты и т.п.), которые могут мешать точной идентификации целевого аналита, а также могут привести к загрязнению хроматографической колонки, что непосредственно может сказаться на точности анализа, необходимо провести очистку первичного экстракта. Очистку было решено провести насыпными сорбентами. Были апробированы следующие сорбенты: силикагель, PSA, C18E, силикагель и GCB (графитированная сажа), PSA.

**Рис. 3.** Хроматограммы экстрактов клубней картофеля до и после очистки PSA.

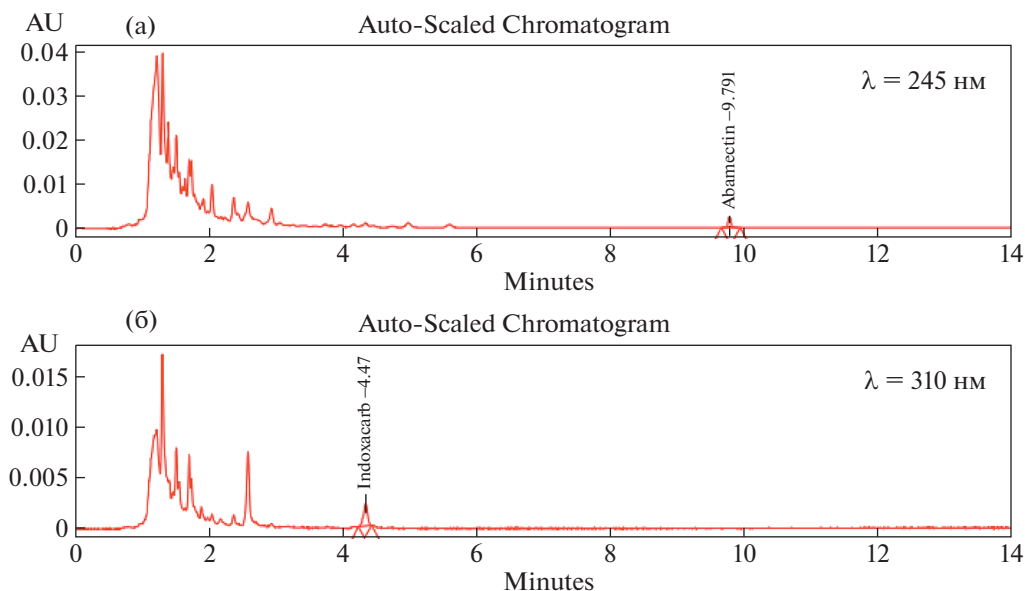


Рис. 4. Хроматограммы сои с внесением: (а) – индоксакарба и (б) – абамектина в количестве 0.1 мг/кг.

GCB и его сочетания обеспечивают хорошую очистку, но сильно уменьшают долю выхода (в %) действующего вещества. Сорбент C18E оказал эффект только при очистке экстрактов сои и продукта его переработки – масла. Ощутимое уменьшение хроматографического фона происходит при использовании сорбента PSA, при этом он никак не влияет на долю выхода действующих веществ и эффективен для всех исследуемых матриц. На рис. 3 представлены хроматограммы кар-

тофеля до и после очистки PSA. Таким образом, было принято проводить пробоподготовку по схеме, приведенной выше. Полнота извлечения абамектина и индоксакарба по данной методике приведена в табл. 2.

Для совместного определения настройки диодно-матричного детектора были выставлены 2 длины волны – 310 и 245 нм. Для быстроты проводимого анализа было принято использовать градиентный режим хроматографирования, что

Таблица 3. Концентрация индоксакарба и абамектина в анализированных пробах капусты

Время после обработки, сут	Анализируемый объект	Почвенно-климатические зоны		
		Санкт-Петербург (1-я зона)	Тамбов (2-я зона)	Волгоградская обл. (3-я зона)
Индоксакарб				
Обработка	Сегменты кочанов	3.58	4.89	1.52
7	То же	2.58	3.26	0.12
14	“_”	н/о	0.25	н/о
21	“_”	н/о		
Урожай (29 сут)	“_”	н/о		
Абамектин				
Обработка	Сегменты кочанов	0.28	0.14	0.15
7	То же	н/о	0.13	0.03
14	“_”	н/о		
21	“_”			
Урожай (29 сут)	“_”	н/о		

Примечание. н/о – не обнаружено.

Таблица 4. Концентрация индоксакарба и абамектина в анализированных пробах сои и продукте ее переработки

Время после обработки, сут	Анализируемый объект	Почвенно-климатические зоны		
		Орел (1-я зона)	Краснодар (2-я зона)	Волгоградская обл. (3-я зона)
Индоксакарб				
Обработка	Зеленая масса	3.01	2.67	1.57
7	То же	0.98	1.32	1.33
14	“_”	0.48	0.74	0.90
21	Бобы	0.12	0.09	0.01
Урожай (29 сут)	То же	Не обнаружено		
Урожай (29 сут)	Масло			
Абамектин				
Обработка	Зеленая масса	0.21	0.40	0.20
7	То же	Не обнаружено		
14	“_”			
21	Бобы	Не обнаружено		
Урожай (29 сут)	То же			
Урожай (29 сут)	Масло	Не обнаружено		

позволяет детектировать действующие вещества за 10 мин. На рис. 4 представлены хроматограммы сои с внесением индоксакарба и абамектина, полученные из одной пробы. С использованием данной методики были проанализированы пробы сои и капусты после обработки препаратом Стилет, МД в 3-х почвенно-климатических зонах в 2019 г. Результаты представлены в табл. 3, 4. В урожае и продуктах переработки остаточных количеств действующих веществ обнаружено не было. Таким образом, при соблюдении регламентов препарат Стилет, МД может быть использован для защиты капусты и сои от вредителей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанный метод имеет ряд неоспоримых преимуществ: во-первых, он позволяет детектировать 2 действующих вещества, относящихся к разным химическим классам, одновременно. Во-вторых, он значительно сокращает время, затраченное на пробоподготовку и непосредственно на хроматографический анализ. В-третьих, данный метод позволяет отказаться от использования дорогостоящих и труднодоступных реактивов, что положительно сказывается на стоимости анализа. Разработанный метод показал высокую долю извлечения действующих веществ. Преимущества данного метода подтверждены в процессе изучения динамики деградации действующих веществ в сое и капусте при обработке препаратом Стилет, МД. Данный метод может быть использован для

экотоксикологической оценки препаратов на основе данных действующих веществ не только в комбинации, но и в отдельности. Также данная методика будет актуальна для изучения остаточных количеств действующих веществ в импортной продукции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Остроухова О.К., Комарова А.С.* Оптимизация методов контроля содержания многокомпонентных пестицидов в сельскохозяйственных культурах. 2016. Вып. 2. С. 72–75.
2. *Зенкевич И.Г., Остроухова О.К., Долженко В.И.* Выбор оптимальных аналитических параметров для хроматографической идентификации пестицидов // ЖАХ. 2002. Вып. 57. № 1. С. 43–48.
3. *Белов Д.А.* Химические методы и средства защиты растений в лесном хозяйстве и озеленении. Учеб. пособ. для студентов. М.: МГУЛ, 2003. 128 с.
4. *Долженко Т.В., Буркова Л.А., Долженко В.И.* Абамектин в защите сада от сосущих вредителей // Мат-лы научн. конф. “Проблемы защиты растений в условиях современного сельскохозяйственного производства”. СПб., 2009. С. 51–52.
5. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 6435890, Abamectin. [Electronic resource]. 2021.
6. *McCann S.F.* The discovery of indoxacarb: oxadiazines as a new class of pyrazoline-type insecticides. // Pest Manag. Sci. 2001. V. 57. № 2. P. 153–164.
7. *Lapied B., Grolleau F., Sattelle D.B.* Indoxacarb, an oxadiazine insecticide, blocks insect neuronal sodium

- channels // Br. J. Pharmacol. 2001. V. 132. № 2. P. 587–595.
8. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 107720, Indoxacarb [Electronic resource]. 2021.
9. *Anastassiades M.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce // J. AOAC Int. AOAC Inter. 2003. V. 86. № 2. P. 412–431.
10. *Tian F.* Development of a fast multi-residue method for the determination of succinate dehydrogenase inhibitor fungicides in cereals, vegetables and fruits by modified QuEChERS and UHPLC-MS/MS // J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci. Elsevier B.V., 2020. V. 1152.
11. *Feng C.* Comprehensive strategy for analysis of pesticide multi-residues in food by GC-MS/MS and UPLC-Q-Orbitrap // Food Chem. Elsevier Ltd, 2020. V. 320.
12. *Hou.* A Modified QuEChERS method for determination of pyrethroid residues in traditional chinese medicine oral liquids by high-performance liquid chromatography // Mol. MDPI AG. 2019. V. 24. № 8. P. 1470.
13. *Mahdavi V.* Health risk assessment of neonicotinoid insecticide residues in pistachio using a QuEChERS-based method in combination with HPLC-UV // Biomed. Chromatogr. John Wiley and Sons Ltd, 2020. V. 34. № 3. P. e4747.

Method for Joint Determination of Residual Amounts of Abamectin and Indoxacarb in Agricultural Crops

E. Yu. Alekseev^{a,#} and V. I. Dolzhenko^a

^aAll-Russian Research Institute of Plant Protection, Shosse Podbel'skogo, 3, St. Petersburg—Pushkin 196608, Russia

[#]E-mail: anscreation@yandex.ru

The analysis of plant samples for the content of residual amounts of pesticides after processing crops with multicomponent preparations is a rather laborious process, therefore, the development of multimethods for determining the residual amounts of pesticides in one sample is an important area. In this work, a method was developed for the joint determination of indoxacarb and abamectin in cabbage, soybeans, and potatoes using the QuEChERS sample preparation method and the HPLC-UV analysis method. The developed method has a high degree of extraction of active substances, and also showed practical significance in the study of the preparation Stilett, MD.

Key words: pesticides, abamectin, indoxacarb, QuEChERS, HPLC.