

# Гармонизация определения инсектицидных субстанций для целей контроля производства и мониторинга готовых композиций

## I. Постановка аналитической задачи

Л.А. Носикова<sup>1,2</sup>, А.Н. Кочетов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>МИРЭА – Российский технологический университет (Институт тонких химических технологий имени М. В. Ломоносова), 119571, Россия, Москва, пр. Вернадского, 86.

<sup>2</sup>ФГБУН Институт физической химии и электрохимии им. А. Н. Фрумкина (ИФХЭ) РАН, 119991, Россия, г. Москва, Ленинский пр., 31.

E-mail: kochchem@mail.ru

Рассмотрены возможности использования хроматографических методов (ВЭЖХ и ГЖХ) при определении сложных многокомпонентных смесей инсектицидных субстанций, использующихся в качестве действующих веществ в продукции, применяемой в практике пест-контроля. Рассмотрены аспекты осуществления контроля в исходных субстанциях, средствах и рабочих растворах на их основе, в воздухе рабочей зоны. Приведены особенности выбора аналитического подхода (хроматографического или спектрофотометрического), осуществления пробоподготовки в связке с оптимальным выбором хроматографического метода. На модельных растворах рассмотрены возможности и границы осуществления группового определения субстанций хроматографическими методами. Предложены адаптированные схемы проведения анализа методом ОФ ВЭЖХ в изократическом режиме с использованием минимального аппаратного оформления и наименее токсичных подвижных фаз на основе ацетонитрила. Для некоторых производных проведена идентификация изомерного состава с выявлением максимального активного изомера (группы изомеров).

**Ключевые слова:** инсектицидные субстанции, определение содержания, пест-контроль, действующее вещество, пиретроиды, фосфорорганические производные, неоникотиноиды, фенилпиразолоны, карбаматы, пирролы, ОФ ВЭЖХ, ГЖХ.

### ВВЕДЕНИЕ

Ранее нами были описаны особенности проведения химико-аналитического определения в таких препаративных формах, как микрокапсулированные инсектицидные композиции [1–3], аэрозольные баллоны [4], гелеобразные приманки [5], инсектородентицидные средства приманочного типа [6] и педикулицидные шампуни [7]. В нормативно-технической документации на конкретные инсектицидные средства, в официальном руководстве [8] и других методических документах [9–11] приведены базовые сведения об осуществлении химико-аналитического контроля и общие рекомендации по его проведению, однако в них либо полностью отсутствует или слабо просматривается системный подход, который заключается в альтернативном выборе аналитического (хроматографического) метода исследования и вариативности при осуществ-

лении пробоподготовки. Массив приведенных в документах сведений характеризуется мозаичной картиной, и зачастую они представлены в разрозненном виде, исследования выполнены на разном оборудовании, что мешает осуществить правильный выбор методики и, соответственно, стартовых оборудования и условий определения. В соответствующих МУК и МУ (методические указания) приводятся методики определения конкретных инсектицидов в объектах окружающей среды и продуктах питания. Актуализация этих документов значительно затруднена при попытке адаптации под существующие цели производственного контроля.

Данная работа как составная часть цикла исследований направлена на снятие методических ограничений, возникающих при решении производственных задач по определению инсектицидных субстанций. Проведенное исследование

было направлено на установление возможности определения действующих веществ (ДВ), объединенных под общим термином дезинсекционные средства (ДС) [8] (инсектицидные и репеллентные субстанции), разных гомологических рядов, подбор режимов хроматографирования, установление границ применимости метода ОФ ВЭЖХ (обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии). Для ряда объектов были подобраны режимы разделения геометрических и оптических изомеров субстанций, а также условия группового определения гомологов, представителей разных групп инсектицидных производных. Параллельно было осуществлено определение методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с использованием плазменно-ионизационного детектора (ПИД) ряда производных и сравнены чувствительности их определения с данными, полученными методом ВЭЖХ.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследований использовали технические субстанции китайского и индийского производства с паспортным содержанием действующих веществ более 96%.

Использовали следующие реагенты и растворители: изопропанол (химически чистый – хч, ГОСТ 18300-87), хлороформ (хч, ТУ 6-09-06-4263), ацетон (для хроматографии ТУ СОМР 2-044-96), 1,4-диоксан (чистый для анализа – чда, ГОСТ 10455-80), уксусная кислота (хч, ГОСТ 61-75), диметилсульфоксид (хч, ТУ 2635-114-44493179-08), вода дистиллированная (ГОСТ 6709-72), ацетонитрил (для ВЭЖХ, Panreac, Испания) использовались без предварительной очистки.

Проведение ВЭЖХ в сочетании с ультрафиолетовым (УФ)-детектированием осуществляли на хроматографе Waters 490 (Waters Ltd., Watford, UK), оснащенный насосом Altex модели 110А, инжектором Rheodyne с объемом петли 20 мкл, УФ-детектором модели 490 с переменной длиной волны. Альтернативно использовали хроматограф «Кристалл ВЭЖХ 2014» (ЗАО «Хроматек», Россия), оснащенный инжектором Rheodyne с объемом петли 20 мкл и ультрафиолетовым и диодноматричными детекторами. Подвижная фаза предварительно дегазировалась при помощи ультразвуковой установки: скорость потока при элюировании, соотношение компонентов, тип колонки и длины волн при детектировании (температура комнатная) указаны в подписях к

рисункам и таблице. Запись хроматограмм проводили с помощью программы «Мультихром» (Ampersand Ltd. версия 1.52i, Россия) и «Хроматек-Аналитик» (ЗАО «Хроматек», Россия).

Газохроматографические исследования проводили, используя аналитический газовый хроматограф «Кристалл 5000.2» (ЗАО «Хроматек», Россия), снабженный пламенно-ионизационным детектором, капиллярной колонкой CR-5 (30 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина слоя неподвижной фазы 0,5 мкм). Условия хроматографирования представлены ниже в подписи к табл. 1.

В процессе работы готовили премиксы анализируемых субстанций в хлороформе с концентрациями 5–10 мг/мл. Путем разбавления премиксов изопропанолом до концентраций 0,02–0,30 мг/мл удалось получить стабильные рабочие растворы (хранение 3 месяца в холодильнике при  $T = 2 \pm 6^\circ\text{C}$ ) для аналитического определения методом ОФ ВЭЖХ с широким охватом полярностей подвижной фазы. Растворы с концентрациями ниже 0,02 мг/мл готовили непосредственно перед использованием.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ассортимент синтетических субстанций, используемых для осуществления мероприятий в рамках пест-контроля, достаточно широк, так же как и возможные формы их применения [12]. Методическое обеспечение дезинфектологической деятельности предоставляет информацию об анализе этих субстанций методами спектрофотометрии (СФ) [10, 11] и газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием (ГЖХ ПИД) [8, 10, 11]. ОФ ВЭЖХ в этих документах рекомендуется использовать только для анализа субстанций имидаклоприд и гидраметилон [8].

Вместе с тем аналитическая практика использования ОФ ВЭЖХ при корректном подходе позволяет в некоторых случаях обеспечить большую чувствительность определения по сравнению с ГЖХ. Запас по чувствительности определения действующих веществ (ДВ) позволяет осуществлять мониторинг на всех этапах проведения дезинфектологических мероприятий от производства (включая входной контроль сырья) до оказания услуг конечным потребителям с возможностью установления остаточных количеств ДВ после обработок (в смывах, остатках средств и объектах окружающей среды). Помимо этого, при размещении хромато-

Таблица 1. Спектральные характеристики, условия хроматографирования и примерное время удерживания субстанций в проанализированных инсектицидных композициях

Группа	Производное/ CAS Number	Коэффициент молярного поглощения $\epsilon$ , л/моль*см	Условия хроматографиро- вания и время удержи- вания, мин		Рисунок [ссылка]
		$\epsilon^{250} / \epsilon^{280}$	ГЖХ* [2, 11]	ОФ ВЭЖХ	
Карбаматы	Байгон [114-26-1]	~850	-	4,3**	[1]
	Метомил [16752-77-5]	~260/~16	-	3,1-4,8**	Рис. 4С
Неоникотиноиды	Имидаклоприд [138261-41-3]	11190/12940	-	3,2**	[1]
	Ацетамиприд [135410-20-7]	-	-	3,8**	[1]
Фенилпиразолон	Фипронил [120068-37-3]	~4500/6800	-	8,4**	[1]
Пиретроиды	Тетраметрин [7696-12-0]	~520/460	9,7-9,9	16,5**	Рис. 5
	Перметрин [52645-53-1]	~2200/2520	13,6-14,0	34-47	Рис. 5 [3]
	Циперметрин [52315-07-8]	~2000/1960	17,8-18,6*	33,0-39,0**	[1]
	$\beta$ -Цигалотрин [91465-08-6]	>1500/1920	12,1-12,5*	35,8**	[1]
	$\beta$ -Цифлутрин [68359-37-5]	-	15,3-16,0	18,7-21,5**	Рис. 5
	Цифенотрин [39515-40-7]	-	12,4-12,9	-	Рис. 5
	Дельтаметрин [52918-63-5]	3550/2650	25,5-26,9*	38,8**	[1]
	Этофепрокс [80844-07-1]	-	16,9-17,7	62,2**	Рис. 5
	Фенотрин [26002-80-2]	~1500/1310	11,3	39/49-55	[7]
	Фенвалерат [51630-58-1]	>4000/2370	20,5-21,5	-	Рис. 5
Пиретроиды (летучие)	Имипротрин [72963-72-5]	230/75	-	6,5	Рис. 1А
	Аллетрин [584-79-2]	760/330	6,0	13,8	Рис. 1В Рис. 5
	Эмпентрин [54406-48-3]	-	-	18,2-20,2	Рис. 1С
	Праллетрин [23031-36-9]	~2200/340	-	10,4	Рис. 1D
	Трансфлутрин [118712-89-3]	-	4,6	-	Рис. 5

ФОСы/тиоФОСы	Хлорпирифос [2921-88-2]	~1000/4000	5,5	16,8**/7,2	Рис. 5 Рис. 2
	Фентион [55-38-9]	>4000/1400	-	4,5	Рис. 2
	Фенитротион [122-14-5]	4000/4800	-	3,8	Рис. 2
	Хлорофос [52-68-6]	-	-	2,1	Рис. 2
	Малатион [121-75-5]	-	-	5,5	Рис. 2
Пирролы	Хлорфенапир [122453-73-0]	-	-	16,4**	[1]
Репелленты	IR 3535 [52304-36-6]	6/2	-	3,9	Рис. 3Д
	Акреп	18/3	-	11,9	Рис. 3В
	Диметилфталат [131-11-3]	-	-	~9	Рис. 3А
	Диэтилтолуоамид [134-62-3]	-	-	~12	Рис. 3А
	KBR 3023 [119515-38-7]	-	-	~6	Рис. 3С
Синергисты	ППБ*** [51-03-6]	1800/2690	9,1	15,7**	Рис. 5

\* условия программирования термостата: 220°C (2 мин) – до 270°C (со скоростью 10°C/мин) – изотерма 270°C (23 мин);  $T_{исп} = 250^\circ\text{C}$  (деление потока 1:80);  $T_{детект} = 280^\circ\text{C}$ ;  $P(N_2) = 75 \text{ кПа}$ ,  $V(N_2) = 20 \text{ см}^3/\text{мин}$ ,  $V(\text{воздух}) = 200 \text{ см}^3/\text{мин}$ ,  $V(\text{сбросной}) = 100 \text{ см}^3/\text{мин}$ ; объем пробы = 1 мкл [2, 4]

\*\* условия термостата:  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ; длина волны детектора = 280 нм; объем пробы = 20 мкл; подвижная фаза  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} : \text{CH}_3\text{COOH}$  (70 : 30 : 1);  $\lambda = 280 \text{ нм}$ , скорость элюирования = 0,5 мл/мин (изократический режим) [1]

\*\*\* пиперонилбутоксид

графического комплекса, обеспечивающего проведение исследований методом ВЭЖХ, не требуется соблюдения жестких норм для производственных помещений, установленных при работе с газовым оборудованием, являющимся неотъемлемой частью комплекса ГЖХ. Используемая хроматографическая система ОФ ВЭЖХ (насос, устройство ввода проб, аналитическая колонка и УФ-детектор) не требует постоянного мониторинга за газовыми линиями и контроля за состоянием газобаллонного оборудования в процессе работы и хранения.

Традиционно можно разделить методическую задачу на два этапа: экстракционный (пробоподготовка) и аналитический (хроматографическое разделение). Второй этап предопределяет осуществление экстракционного извлечения, поэтому именно его мы рассмотрим в первую очередь.

Рекомендуемый метод контроля должен быть подвергнут стандартным процедурам в соот-

ветствии с системой менеджмента качества, верификации (при разработке метода контроля самостоятельно) или валидации (при адаптации уже ранее действующего методического документа). В некоторых случаях возможно успешно адаптировать методы контроля, прошедшие метрологическую аттестацию для анализа объектов окружающей среды, к прикладным задачам организаций, осуществляющих выпуск инсектицидной продукции.

Дополнительные затруднения связаны и со спецификой объектов мониторинга – инсектицидных субстанций. Некоторые инсектициды являются смесями сложного состава, включающими до 8 изомерных субъединиц (например, субстанция циперметрин является смесью 8 оптических изомеров, при этом состав изомеров в зависимости от способа получения/очистки варьируется от 2 до 8 [13]). Помимо циперметрина, по 8 оптических изомеров содержат та-

кие субстанции, как дельтаметрин, цифлутрин, цигалотрин и аллетрин. По четыре оптических изомера содержится в таких субстанциях, как фенотрин, тетраметрин, трансфлутрин, праллетрин, имипротрин и др. [14]. Технический препарат (аналитический стандарт) содержит все изомеры (даже при использовании стереоселективных подходов к синтезу производных), при этом отличие будет заключаться только в содержании побочных продуктов и основных изомеров.

Необходимо отдельно остановиться на качестве аналитических стандартов. В целом, приемлемый уровень мониторинга достигается даже при наличии технических субстанций со стартовыми паспортными значениями содержания инсектицидных субстанций. Но ставить знак равенства между технической субстанцией и метрологически значимым аналитическим стандартом, ориентированным на эталонные образцы, не совсем корректно. Вместе с тем, рынок аналитических стандартов крайне беден. На территории Таможенного союза производится всего несколько наименований метрологически значимых аналитических стандартов ДВ. Но ни они, ни другие импортные образцы известных фирм, позиционирующиеся как референс- или сертифицированные референс-материалы (RM и CRM соответственно), не будут являться значимыми в случае арбитража, т. е. могут просто игнорироваться в качестве аналитических стандартов как имеющие неясный правовой статус. К подобного рода уловкам прибегают некоторые производители субстанций при попытках оспаривания результатов любой экспертной оценки, выполненной в РФ. Производители часто не принимают результатов экспертизы, обосновывая это тем, что при ее проведении были использованы стандарты, например, с более низким содержанием основного/ых вещества/в и неясным фазовым статусом в отличие от использованного ими. Также предпринимаются попытки списать невозможность результата экспертизы на методические отличия в осуществлении как аналитической части определения, так и пробоподготовки.

В рамках проведенных исследований проанализированные технические субстанции продемонстрировали достаточно высокое качество, что подтверждалось исследованиями методом ОФ ВЭЖХ, однако необходимо отметить, что изомерный состав и содержание примесных фаз варьировались в значительном диапазоне.

Более того, зачастую исходные субстанции представляют собой неоднородные продукты (спрессованные в плотные, плохо откалываемые куски, полностью заполняющие тару, в которую они помещены), расслаивающиеся и подвергающиеся иным изменениям вследствие нарушения герметичности заводской упаковки или в процессе транспортировки/хранения. В работе с подобными образцами результат анализа будет в большей степени зависеть от того, насколько правильно была осуществлена стадия пробоотбора и насколько представляемая в лабораторию проба будет соответствовать содержанию поставляемой емкости с находящейся субстанцией. В технологических картах/регламентах процессов производства ДС целесообразно учитывать помимо стадий проведения корректной процедуры пробоотбора стадию гомогенизации субстанций.

Проведенные нами ранее исследования позволили выявить условия разделения и пределы детектирования методом ОФ ВЭЖХ при групповом определении серии пиретроидных инсектицидов в модельном растворе (колонка «Сепарон SGX C18 Супер (RP-S)» (4,0×150 мм), зернение 5 мкм («Элсико», Россия),  $\text{CH}_3\text{CN} - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3\text{COOH}$  (70 : 30 : 0,5), 0,5 мл/мин,  $\lambda = 280$  нм), включая возможность определения геометрических изомеров для перметрина [3]. Пределы обнаружения для исследованных производных находятся на уровне 0,005% для субстанций тетраметрин и трансфлутрин и 0,001% для других гомологов (лямбдацигалотрин, циперметрин, дельтаметрин, перметрин и фенотрин). Тонкий подбор условий хроматографирования позволяет определять содержание некоторых изомерных форм для субстанций циперметрин [13] и перметрин [3, 7]. При работе с инсектицидной субстанцией альфациперметрин без использования специализированных хиральных стационарных фаз удается детектировать оба оптических изомера, включая самую активную ( $\alpha\text{S}$  (1R)-cis) форму из 8 оптических изомеров субстанции циперметрин [14].

В целях унификации условий проведения ОФ ВЭЖХ-определения, выбор длин волн детектирования для разных групп соединений осуществляли исходя из спектральных особенностей типичных представителей. Ориентируясь на описанные в литературе [10, 11, 15–19] и собственные значения спектральных характеристик (табл. 1), детектирование при групповом и индивидуальном определении осуществляли при дли-

нах волн 280, 250 и 220 нм для пиретроидных инсектицидов, «летучих» пиретроидных инсектицидов (рис. 1 А–D) и фосфорсодержащих инсектицидов (рис. 2) соответственно.

Значительные различия в спектральных характеристиках приводят к границам определения ДВ (чувствительности метода), поскольку детектирование осуществляется с помощью спектрофотометрического детектора в ультрафиолетовой области спектра. Например, пределы детектирования субстанций циперметрин и тетраметрин различаются примерно в 5 раз, тогда как для субстанций имипротрин, акреп и IR 3535 разница составляет порядок и два порядка соответственно, что следует из сравнения значений молярного коэффициента поглощения (табл. 1).

В том случае, когда спектральные характеристики определяемых соединений низки, приоритет стоит отдавать методу ГЖХ. Однако высокие спектральные характеристики некоторых членов гомологического ряда, напротив, не могут служить гарантией создания высокоселективного метода определения всех производных серии. Например, несмотря на высокие спектральные характеристики некоторых фосфорсодержащих субстанций, их совместное определение возможно только при 220 нм (рис. 2), что обусловлено низкими спектральными характеристиками при 250 и 280 нм субстанций хлорофос и малатион, хотя величины остальных членов гомологического ряда обеспечивают чувствительность определения  $5 \cdot 10^{-5}\%$  при длине волны детектирования 280 нм для таких субстанций, как фентион, метафос и хлорпирифос. Сравнение чувствительности определения реперной субстанции хлорпирифос методами ГЖХ и ОФ ВЭЖХ демонстрирует как минимум в три раза большую чувствительность определения последним методом в выбранных условиях при заведомо более высокой селективности.

Для репеллентных субстанций картина более мозаичная. С одной стороны, детектирование для большинства соединений возможно осуществлять в спектральном диапазоне 220–250 нм (табл. 1, рис. 3), но чувствительность определения заметно уступает методу ГЖХ. Эту тенденцию несколько купирует субстанция ДЭТА, имеющая значительно более высокие оптические характеристики по сравнению с другими репеллентами. Например, предел обнаружения ДЭТА при 280 нм, а особенно при 250 нм, значительно выше установленных значений для метода

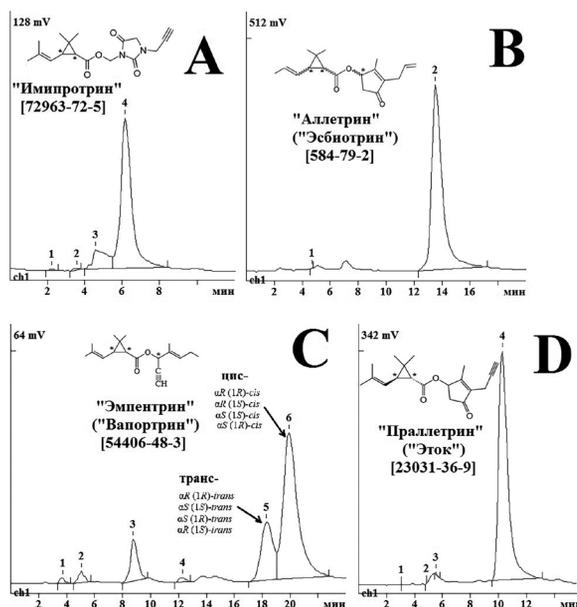


Рис. 1. Хроматограммы модельных растворов «летучих» пиретроидных инсектицидов из технических субстанций (колонка 4,0×150 мм «Сепарон SGX C18 Супер (RP-S)», 5 мкм; система  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  (80 : 20);  $\lambda = 250$  нм; 0,5 мл/мин): А – Имипротрин, 0,100%-й раствор в изопропаноле В – Аллетрин, 0,100%-й раствор в изопропаноле С – Эмпентрин, 0,094%-й раствор в изопропаноле D – Праллетрин, 0,093%-й раствор в изопропаноле

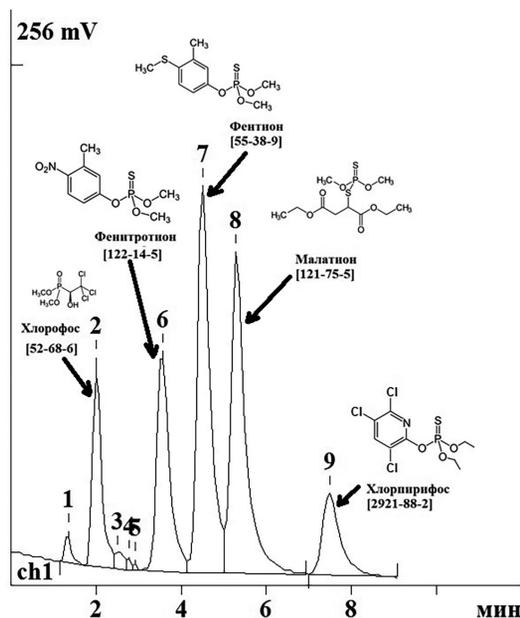


Рис. 2. Хроматограмма модельного раствора (0,0010–0,0015% в изопропиловом спирте) фосфорсодержащих инсектицидов: Хлорофос, Фенитротрион, Фентион, Малатион, Хлорпирифос. Колонка 4,0×150 мм «Сепарон SGX C18 Супер (RP-S)», 5 мкм. Система  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  (80 : 20);  $\lambda = 220$  нм; 0,5 мл/мин

ГЖХ в варианте с капиллярной колонкой при сохранении относительно высокой селективности ВЭЖХ определения в целом.

Также осуществлен скрининг условий для хроматографирования других инсектицидных субстанций и вспомогательных веществ (табл. 1, рис. 4). Ранее была продемонстрирована возможность проводить идентификацию оптических изомерных форм фипронила и геометрических изомеров ацетамиприда [14]. Для субстанции пропиконазол соотношение между изомерами цис- и транс- не является столь же информативным, как для пиретроидных инсектицидов, ввиду того что оптически активные формы одинаково распределяются между цис- и транс-формами, более того, оптические изомеры близки по активности [20]. Близкие значения биологической активности между оптическими изомерами фипронила (не более 20% для различных видов насекомых [21]), несколько снижают преимущества определения данного производ-

ного, однако информация об энантиомерном составе может быть использована в качестве дополнительной при выполнении арбитражных исследований. Геометрические изомеры для субстанции метомил могут быть идентифицированы (рис. 4С). При этом следует признать, что подбор условий для мониторинга субстанции гидраметилнон, в отличие от диазинона, требует доработки, хотя и пригоден для отслеживания продукции (рис. 4А, В).

Ранее было продемонстрировано, что имидаклоприд определяется методом ВЭЖХ с детектированием при 220 нм [22, 23], 270 нм [24–26] и 280 нм [1, 27]. Мы предпочли наиболее универсальную (т. е. учитывающую спектральные характеристики представителей других классов инсектицидов) длину волны – 280 нм [1], при этом время удерживания (табл. 1) оказалось не хуже, чем в работах [22, 23].

Для большинства исследованных субстанций проведение определения в слабокислых условиях предпочтительнее, поскольку в этом случае удается

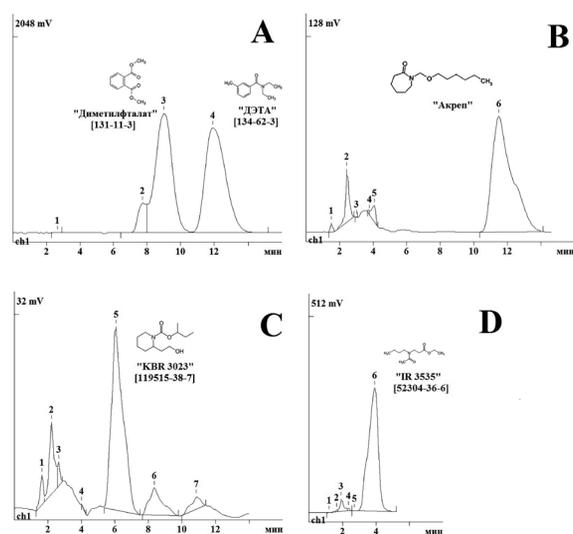


Рис. 3. Хроматограммы модельных растворов репеллентных субстанций:

А – Диметилфталат, 0,110%-й раствор и ДЭТА (Диэтилтолуамид), 0,110%-й раствор в изопропанол. Колонка 4,0×150 мм «Сепарон SGX C18 Супер (RP-S)», 5 мкм. Система  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  (60 : 40);  $\lambda = 250$  нм; 0,3 мл/мин

В – Акреп, 0,201%-й раствор в изопропанол. Колонка Zorbax ODS 4,6×250 мм, 5 мкм. Система  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  (60 : 40);  $\lambda = 230$  нм; 0,5 мл/мин

С – KBR 3023, 0,500%-й раствор в изопропанол. Колонка Zorbax ODS 4,6×250 мм, 5 мкм. Система  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  (60 : 40);  $\lambda = 220$  нм; 0,5 мл/мин

Д – IR 3535, 0,445%-й раствор в изопропанол. Колонка Zorbax ODS 4,6×250 мм, 5 мкм. Система  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  (60 : 40);  $\lambda = 230$  нм; 0,5 мл/мин

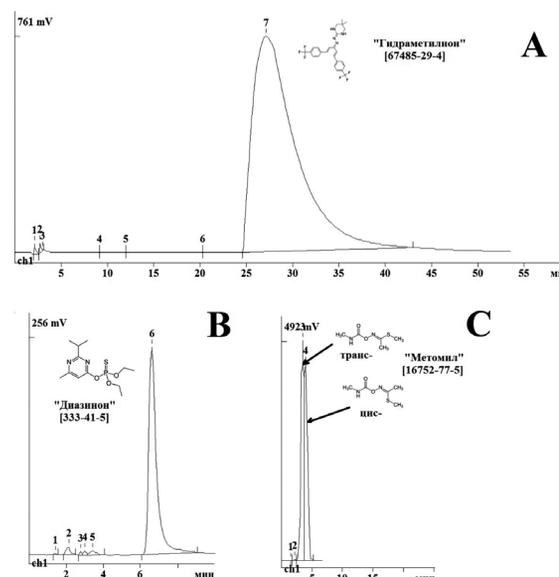


Рис. 4. Хроматограммы модельных растворов инсектицидных субстанций:

А – Гидрометилнон, 0,145%-й раствор в изопропанол. Колонка 4,0×150 мм «Сепарон SGX C18 Супер (RP-S)», 5 мкм. Система  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O} : \text{CH}_3\text{COOH}$  (70 : 30 : 0.5);  $\lambda = 280$  нм; 0,5 мл/мин

В – Диазинон, 0,140%-й раствор в изопропанол. Колонка 4,0×150 мм «Сепарон SGX C18 Супер (RP-S)», 5 мкм. Система  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  (80 : 20);  $\lambda = 260$  нм; 0,5 мл/мин

С – Метомил, 0,122%-й раствор в изопропанол. Колонка 4,0×150 мм «Сепарон SGX C18 Супер (RP-S)», 5 мкм. Система  $\text{CH}_3\text{CN} : \text{H}_2\text{O}$  (60 : 40);  $\lambda = 250$  нм; 0,5 мл/мин

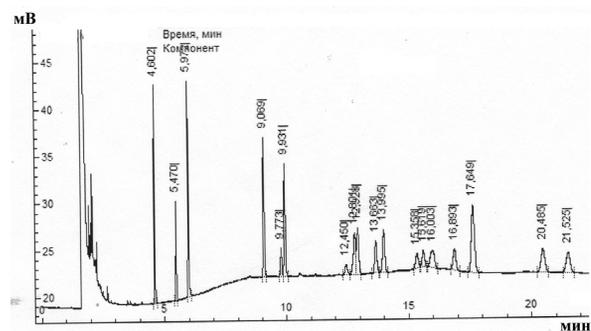
минимизировать процесс гидролиза, интенсивно протекающий в нейтральной или в щелочной среде (особенно это актуально для фосфорсодержащих производных). При подборе условий элюирования определяемых субстанций в ряде случаев в качестве одного из компонентов подвижной фазы использовалась уксусная кислота, что, как оказалось, не приводит к заметной деструкции проанализированных образцов. Выбор основного компонента подвижной фазы изначально был сделан в пользу менее токсичного ацетонитрила, обладающего к тому же меньшей вязкостью по сравнению с другим возможным элюентом – метанолом.

Резюмируя результаты, получаемые методом ОФ ВЭЖХ, можно констатировать, что данный аналитический подход может быть смело расширен от мониторинга рекомендуемых субстанций имидаклоприд и гидраметилнон [8] на широкий спектр инсектицидных субстанций, при этом перечень таких объектов не ограничивается упомянутыми в табл. 1.

Именно данный метод позволяет создать инструмент мониторинга степени чистоты субстанции, проводя исследование раствора с базовой концентрацией 0,001–0,100% в определенном растворителе (например изопропанол) при определенной длине волны (соответствующей максимуму поглощения субстанции) или при фиксированной длине волны 220, 250 или 280 нм в случае гармонизованного метода контроля. В этом случае обработка хроматограммы с учетом всех детектируемых пиков приведет к оценке содержания субстанции (возможно, изомерных форм) и примесей. Такой подход применяется при использовании импортных референс-материалов (RM). При этом сертифицированные референс-материалы (CRM) более высокого класса фактически отличаются от RM дополнительной оценкой подлинности субстанции, проведенной физико-химическими методами: инфракрасной спектроскопией, ядерным магнитным резонансом, круговым дихроизмом, масс-спектрометрией и рентгеновскими методами. При наличии в лаборатории помимо хроматографического оборудования одного из приборов, позволяющих проводить соответствующие исследования, становится возможным подтверждать подлинность субстанции не только по времени удерживания на хроматограмме. В сочетании с прохождением регистрационных процедур все это позволит наладить производство и продажу аналитических материалов в качестве стандартов инсектицидных субстанций.

Альтернативой методу ОФ ВЭЖХ является метод ГЖХ, который по сути является базовым при анализе инсектицидов широкого спектра [8]. Однако стоит

признать, что рекомендованные для осуществления хроматографического анализа насадочные колонки [8] уступают место более эффективным и современным капиллярным колонкам, и, хотя пока это никак не отражается в руководящих документах, при создании собственных методик контроля ориентироваться все же стоит именно на последние. В дополнение к ранее приведенным методам группового определения инсектицидных субстанций [1, 2, 4, 7] приведем условия определения десяти инсектицидных субстанций (рис. 5), также позволяющие получить информацию об изомерном составе шести из них. Пожалуй, главным ограничением метода ГЖХ является достаточно низкая чувствительность при использовании простого ПИД. Использование высокоселективного масс-спектрометрического детектора (МСД) чрезвычайно дорого из-за высокой стоимости оборудования, обслуживания и расходных материалов при эксплуатации. Не уступает МСД по чувствительности электронно-захватный детектор (ЭЗД), однако он подходит для субстанций, содержащих «тяжелые» атомы (хлор, бром и т. д.), и помимо прочего требует регистрации как устройство, выполненное с использованием радиоактивных материалов, в соответствующих надзорных ведомствах с дополнительным периодическим контролем в процессе эксплуатации. Несколько увеличить чувствительность ПИД можно, перейдя на термоионный детектор (ТИД), однако это оправдано только в случае наличия в структуре инсектицида атомов азота и фосфора, при этом данный тип детекторов имеет низкое распространение (в силу специфики) и не всегда гарантированно выдает лучшие результаты по чувствительности относительно ПИД.



**Рис. 5.** Хроматограмма модельного раствора инсектицидных субстанций с концентрациями 0,010% в изопропанол: Трансфлутрин 4,60 мин, Хлорпирифос 5,47 мин, Эсбиотрин 5,97 мин, ППБ 9,07 мин, Тетраметрин 9,77–9,93 мин, Цифенотрин 12,45–12,92 мин, Перметрин 13,66–13,99 мин, Цифлутрин 15,35–16,00 мин, Этофенпрокс 16,89–17,65 мин, Эсфенвалерат 20,48–21,52 мин. Условия хроматографирования см. табл 1 сноски\* аналогичны [2, 4].

Если ограничением для детектирования методом ОФ ВЭЖХ являются низкие спектральные характеристики субстанции, то для ГЖХ – низкая летучесть и устойчивость определяемых производных. В некоторых случаях при использовании ГЖХ приходится подбирать режим ввода проб, используя так называемый баллистический режим, но в этом случае блок ввода должен изначально давать возможность программирования температуры во времени, что доступно только в дорогих моделях испарителей.

Большая устойчивость и стабильность во времени результатов исследований, получаемых методом ГЖХ, по сравнению с методом ОФ ВЭЖХ, например по времени удерживания, тем не менее нивелируется более низкой чувствительностью и разбросом значений при получении серии результатов даже при использовании средств автоматизации ввода проб. Эти ограничения фактически сводят использование ГЖХ только к анализу готовой продукции, тогда как методом ОФ ВЭЖХ проводят анализ «нелетучих» производных, технических субстанций, а также определяют остаточных содержаний в смывах или в окружающем воздухе.

В случае анализа смывов возможно прямое введение как водных растворов, так и смесей или экстрактов на основе растворителей (спирты, ацетон, ацетонитрил, диметилсульфоксид, диметилформамид, 1,4-диоксан и проч.) аналогично анализу дезинфекционных субстанций фенольного ряда [28] и производных подгруппы изотиазолинона [29].

Аналогично может быть построена схема анализа воздуха для производственных нужд исходя из общих методов пробоотбора: через поглотительный раствор, помещенный в аппарат Зайцева (объем раствора поглотителя обычно выбирается в диапазоне 5–10 см<sup>3</sup>), аэрозольные фильтры АФА или бумажные фильтры «белая лента» (с последующим смыванием в раствор объемом 10 см<sup>3</sup> в конической колбе КН-1-50-29/32 на 50 см<sup>3</sup> со шлифом по ГОСТ 25336-82). В качестве поглотительного раствора или растворителя для извлечения из поверхностного слоя фильтров используется изопропанол, при этом возможно кратковременное применение ультразвуковой обработки для удаления субстанций с фильтров. Минимальное время пробоотбора через поглотительный раствор/фильтр легко вычислить исходя из объема воздуха, прошедшего через аспираторное устройство, и учитывая значение ОБУВ в воздухе для определяемой субстанции минимум 0,5\*ОБУВ. Например, для определения субстанции фипронил методом ОФ ВЭЖХ установлен оптимальный диапа-

зон определения в растворе 0,005–0,150 мг/см<sup>3</sup> и предел обнаружения на уровне 0,0005 мг/см<sup>3</sup> [5], при этом ОБУВ в воздухе рабочей зоны составляет 0,1 мг/м<sup>3</sup>. Тогда для уверенного детектирования необходима концентрация 0,05 мг/м<sup>3</sup> (значение 0,5\*ОБУВ), при этом объем анализируемого раствора будет равен 10 см<sup>3</sup>. Исходя из рабочей концентрации при хроматографическом анализе в 0,005 мг/см<sup>3</sup>, необходимой для детектирования субстанции, минимальное значение в растворе будет 0,05 мг (10 см<sup>3</sup> x 0,005 мг/см<sup>3</sup>). Это количество содержится в 1 м<sup>3</sup>, именно этот объем и необходимо прокачать при помощи аспиратора через фильтр/поглотительный раствор. Скорость аспирации или время анализа можно уменьшить в 5 раз при работе с более низкой чувствительностью (не 0,005, а 0,001 мг/см<sup>3</sup>), однако в этом случае будет наблюдаться выход за оптимальный концентрационный диапазон. Аналогичным образом можно поступать при анализе других инсектицидных субстанций в воздухе. Высокая чувствительность метода ОФ ВЭЖХ в этом случае позволяет решать задачи гигиенического нормирования, что ранее было продемонстрировано [30].

В дальнейшем мы рассмотрим особенности пробоподготовки и валидационных процедур при проведении оценки различных инсектицидных композиций.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе были рассмотрены методические подходы к определению концентраций большинства классов использующихся в настоящее время инсектицидных субстанций.

Установлена низкая степень влияния использованных растворителей на результат анализа, при этом показана необходимость учитывать полярность подвижной фазы при осуществлении хроматографического разделения методом ОФ ВЭЖХ. Предложенные условия для метода ОФ ВЭЖХ являются универсальными для всех классов исследованных инсектицидов. Показана принципиальная возможность и приводится описание процедуры стандартизации технической инсектицидной субстанции с дальнейшим ее использованием в качестве собственного стандарта предприятия для целей контроля производства.

Приведенные условия применения метода ГЖХ позволяют определять далеко не все классы субстанций, более того, данный подход сложно рекомендовать для анализа смывов или воздуха из-за достаточно низкой чувствительности в отличие от метода ОФ ВЭЖХ.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ REFERENCES

1. Носикова Л. А., Кочетов А. Н. Аспекты производства и контроля микрокапсулированных инсектицидных композиций. II. Аналитическое определение инсектицидных субстанций хроматографическими методами // Пест-менеджмент. 2020. № 4. С. 26–37. [Nosikova L. A., Kochetov A. N. Aspects of production and control of microcapsulated insecticide compositions. II. Analytical determination of insecticidal substances by chromatographic methods // Pest management (ISSN 2076-8462). 2020 (4): 26–37. doi: 10.25732/PM.2020.116.4.004.] [In Russian].
2. Носикова Л. А., Кочетов А. Н., Матвеев А. А. Методические подходы к определению инсектицидных субстанций в микрокапсулированных композициях // Пест-менеджмент. 2018. № 2. С. 31–39. [Nosikova L. A., Kochetov A. N., Matveev A. A. Methodical approaches to determination of insecticidal substances in microencapsulated compositions // Pest management (ISSN 2076-8462). 2018 (2): 31–39. doi: 10.25732/PM.2019.106.2.005.] [In Russian].
3. Носикова Л. А., Кочетов А. Н. Возможности определения лямбда-цигалотрина в микрокапсулированных инсектицидных композициях // Тонкие химические технологии. 2016. Т. 11. № 1. С. 45–52. [Nosikova L. A., Kochetov A. N. Possibility of determination of lambda-cyhalothrin in a microencapsulated insecticidal compositions // Fine chemical technology (ISSN 2410-6593). 2016 11(1): 45–52. doi: 10.32362/2410-6593-2016-11-45-52.] [In Russian].
4. Носикова Л. А., Кочетов А. Н., Матвеев А. А. Методические подходы к определению инсектицидных субстанций (имidakлоприд и тетраметрин в присутствии пиперонилбутоксид) в аэрозольном средстве // Пест-менеджмент. 2018. № 3. С. 31–39. [Nosikova L. A., Kochetov A. N., Matveev A. A. Methodical approaches to determination of insecticidal substances (imidacloprid, and tetramethrin in the presence of piperonylbutoxide) in an aerosol medium // Pest management (ISSN 2076-8462). 2018 (3): 30–39.] [In Russian].
5. Носикова Л. А., Кочетов А. Н. Анализ инсектицидных гелей, содержащих фипронил, методом ОФ ВЭЖХ // Тонкие хим. технологии. 2018. Т. 13. № 2. С. 72–80. [Nosikova L. A., Kochetov A. N. Analysis of insecticide gels containing fipronil by RP HPLC // Fine chemical technology (ISSN 2410-6593). 2018 13(2): 72–80.] [In Russian].
6. Носикова Л. А., Кочетов А. Н. Оптимизация определения действующих веществ в инсектородентицидных средствах на основе фипронила с производными 4-гидроксикумарина методом ОФ ВЭЖХ // Пест-менеджмент. 2018. № 4. С. 22–29. [Nosikova L. A., Kochetov A. N. Optimization of the determination of active substances in insectorodenticide means on the basis of fipronil derivatives with 4-hydroxycoumarin by the method of RP HPLC // Pest management (ISSN 2076-8462). 2018 (4): 22–29. doi: 10.25732/PM.2019.108.4.004.] [In Russian].
7. Носикова Л. А., Кочетов А. Н. Пути повышения эффективности педикулицидов и зоошампуней при использовании инсектицидных субстанций // Пест-менеджмент. 2021. № 4. С. 12–21. [Nosikova L. A., Kochetov A. N. Ways to increase the effectiveness of pediculicides and pet shampoos when using insecticidal substances // Pest management (ISSN 2076-8462). 2021 (4): 12–21.] [In Russian].
8. Р 4.2.2643-10 Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности, Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва (2010), сс. 27–52. [Р 4.2.2643-10 Methods of laboratory testing and testing of disinfectants to assess their effectiveness and safety, 2010, pp. 27–52] [In Russian].
9. Современные вопросы дезинфектологии, ФБУН «НИИДезинфектологии» Роспотребнадзора, Москва (2018), сс. 405–420. [Modern issues of disinfection, Moscow, 2018, pp. 405–420, ISBN 978-5-6040817-3-0] [In Russian].
10. Крейнгольд С. У. Практическое руководство по химическому анализу дезинфекционных препаратов, ЦИОРИД Биор, Москва (1998), с. 150. [Kreyngold S. U. A practical guide to chemical analysis disinfection drugs, Moscow: CYORIDE Bior, 1998, p. 150] [In Russian].
11. Крейнгольд С. У. Практическое руководство по химическому анализу дезинфекционных препаратов, Экспресспринт, Москва (2002), с. 156. [Kreyngold S. U. A practical guide to chemical analysis disinfection drugs, Moscow: Expressprint, 2002, p. 156] [In Russian].
12. Елиневская Л. С. Современные препаративные формы пестицидов // Защита и карантин растений. 2005. № 8. С. 34–38. [Elinevskaya L. S. Modern formulation forms of pesticides // Plant protection and quarantine (ISSN 1026-8634). 2005 (8): 34–38] [In Russian].
13. Носикова Л. А., Кочетов А. Н. Установление изомерного состава инсектицидной субстанции циперметрин методом обращенно-фазовой ВЭЖХ // Тонкие химические технологии. 2017. Т. 12. № 1. С. 76–82. [Nosikova L. A., Kochetov A. N. The

establishment of the isomeric composition of the substance cypermethrin insecticide by the method of reversedphase HPLC // *Fine chemical technology* (ISSN 2410-6593). 2017 12(1): 76–82.] [In Russian].

14. Носикова Л. А., Кочетов А. Н. Возможности установления изомерного состава действующих веществ в инсектицидных композициях // *Дезинфекционное дело*. 2016. № 1. С. 44–56. [Nosikova L. A., Kochetov A. N. The possibility of establishing isomeric composition of active substances in insecticide compositions // *Disinfection affairs* (ISSN 2076-457X). 2016 (1): 44–56.] [In Russian].

15. Крейнгольд С. У. Методы определения некоторых инсектицидов в воздухе рабочей зоны // *Дезинфекционное дело*. 1996. № 2. С. 45–49. [Kreingold S. U. Methods for the determination of certain insecticides in the air of the working area // *Disinfection affairs* (ISSN 2076-457X). 1996 (2): 45–49.] [In Russian].

16. Крейнгольд С. У. Спектрофотометрическое определение пиретроидов в некоторых аэрозольных инсектицидных средствах // *Дезинфекционное дело*. 1999. № 1. С. 38–39. [Kreingold S. U. Spectrophotometric determination of pyrethroids in some aerosol insecticides // *Disinfection affairs* (ISSN 2076-457X). 1999 (1): 38–39.] [In Russian].

17. Крейнгольд С. У., Шестаков К. А. Определение 0,02–0,1% фипронила в инсектицидных гелях методами газовой, тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии // *Дезинфекционное дело*. 2002. № 3. С. 47–48. [Kreingold S. U., Shestakov K. A. Determination of 0,02–0,1% fipronil in insecticidal gels by gas, thinlayer chromatography and spectrophotometry // *Disinfection affairs* (ISSN 2076-457X). 2002 (3): 47–48.] [In Russian].

18. Крейнгольд С. У., Шестаков К. А. Оптические характеристики некоторых инсектицидов и ратицидов и методы их определения в дезинфекционных средствах // *Дезинфекционное дело*. 1998. № 1. С. 58–61. [Kreingold S. U., Shestakov K. A. Optical characteristics of some insecticides and raticides and methods of their determination in disinfectants // *Disinfection affairs* (ISSN 2076-457X). 1998 (1): 58–61.] [In Russian].

19. Крейнгольд С. У., Шестаков К. А. Фотометрические и титриметрические методы анализа концентратов некоторых инсектицидов и ратицидов после разделения тонкослойной хроматографией // *Дезинфекционное дело*. 1999. № 4. С. 22–24. [Kreingold S. U., Shestakov K. A. Photometric and titrimetric methods of analysis of concentrates of some insecticides and raticides after separation by thinlayer chromatography // *Disinfection affairs* (ISSN 2076-457X). 1999 (4): 22–24.] [In Russian].

20. Glaser R., Adin I., Ovadia D., Mendler E., Drouin M. Solidstate structure determination and solution-state NMR characterization of the (2R,4R)/(2S,4S)- and (2R,4S)/(2S,4R)- diastereomers of the agricultural fungicide propiconazole, the (2R,4S)/(2S,4R)- symmetrical triazole constitutional isomer, and a ditriazole analogue // *Struct. Chem.* 1995. V. 6. № 3. P. 145–156. doi: 10.1007/BF02286441.

21. Teicher H. B., Kofoed-Hansen B., Jacobsen N. Insecticidal activity of the enantiomers of fipronil // *Pest Managm. Sci.* 2003. V. 59. P. 1273–1275. doi: 10.1002/PS.819.

22. Амелин В. Г., Лаврухин Д. К., Третьяков А. В., Ефремова А. В. Определение полярных пестицидов в воде, овощах и фруктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Вестник Московского университета. Серия 2: Химия*. 2012. Т. 53. № 6. С. 392–400. [Amelin V. G., Lavrukhin D. K., Efremova A. A., Tretjakov A. V. Determination of polar pesticides in water, vegetables, and fruits by high performance liquid chromatography // *Moscow University Chemistry Bulletin*. (ISSN 0579-9384). 2012 53(6): 275–282.] [In English].

23. Амелин В. Г., Большаков Д. С., Третьяков А. В. Идентификация и определение синтетических пиретроидов, хлорпирифоса и неоникотиноидов в воде методами газовой и жидкостной хроматографии // *Журнал аналитической химии*. 2012. Т. 67. № 4. С. 398–403. [Amelin V. G., Bolshakov D. S., Tretjakov A. V. Identification and determination of synthetic pyrethroids, chlorpyrifos and neonicotinoids in water by gas and liquid chromatography // *Journal of analytical chemistry* (ISSN 0044-4502). 2012 67(4): 354–359, doi: 10.1134/s1061934812040119.] [In English].

24. Baskaran S., Kookana R. S., Naidu R. Determination of the insecticide imidacloprid in water and soil using high-performance liquid chromatography. // *J. Chromatogr A*. 1997. V. 787. № 1–2. P. 271–275, doi: 10.1016/s0021-9673(97)00652-3.

25. Ishii Y., Kobori I., Araki Y., Kurogochi S., Iwaya K., Kagabu S. HPLC determination of the new insecticide imidacloprid and its behavior in rice and cucumber // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1994. V. 42. № 12. P. 2917–2921, doi: 10.1021/jf00048a051.

26. Dewangan G., Mishra A., Mandal T.K. A simple RP-HPLC method for determining imidacloprid residues in goat tissues // *Biomedical Research*. 2016. V. 27. № 1. P. 11–15.

27. Verma M. K., Kumar N. Determination of insecticide imidacloprid in soil by HPLC // *International Journal of Chemical Studies*. 2018. V. 6. № 3. P. 3667–3669.

28. Носикова Л. А., Кочетов А. Н. Методические подходы в экспресс-оценке субстанций фенольного ряда в дезинфекционных средствах и смывах хроматографическими методами // Пест-Менеджмент. 2021. № 1. С. 26–34. [Nosikova L. A., Kochetov A. N. Methodological approaches in express evaluation of phenolic substances in disinfectants and flushes by chromatographic methods // Pest management (ISSN 2076-8462). 2021. (1): 26–34. doi: 10.25732/PM.2021.117.1.003.] [In Russian].

29. Носикова Л.А., Кочетов А.Н. Методические подходы к оценке дезинфекционных субстанций в композициях неизвестного состава. I. Дезинфицирующие средства // Пест-Менеджмент. 2021. № 2. С. 20–35. [Nosikova L. A., Kochetov A. N. Methodological approaches to the assessment of disinfection substances

in compositions of unknown composition. I. Disinfectants // Pest management (ISSN 2076-8462). 2021. (2): 20–35. doi: 10.25732/PM.2021.118.2.004.] [In Russian].

30. Прохоров Н. И., Ходыкина Т. М., Виноградова А. И., Бидевкина М. В., Иванова А. О., Андреев С. В. Оценка безопасности бытовых инсектицидных электрофумигирующих средств на основе трансфлутрина и праллетрина // Гигиена и санитария. 2019. Т. 98. № 4. С. 374–379. [Prokhorov N. I., Khodykina T. M., Vinogradova A. I., Bidevkina M. V., Ivanova A. O., Andreev S. V. Assessment of the safety of domestic insecticide electroforming devices based on transflutrin and pralletrin // Hygiene and sanitation (ISSN 0016-9900). 2019. 98(4): 374–379. doi: 10.18821/0016-9900-2019-98-4-374.] [In Russian].

## Harmonization of the definition of insecticidal substances for the purposes of production control and monitoring of finished compositions. I. Formulation of the analytical problem

Nosikova L.A.<sup>1,2</sup>, Kochetov A.N.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, MIREA – Russian Technological University (86, Vernadskogo Pr., Moscow 119571, Russia)

<sup>2</sup>A.N. Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry of the Russian Academy of Sciences (IPCE RAS), (31, LeninskyPr, Moscow, 119991, Russia)

@Corresponding author e-mail: kochchem@mail.ru

The possibilities of using chromatographic methods (HPLC and GC) in the determination of complex multicomponent mixtures of insecticidal substances in model solutions and some commercial compositions used as active substances in products used in the practice of «pest control» are considered. The aspects of control in the initial substances, means and working solutions based on them, the air of the working area are considered. The features of the choice of an analytical method (chromatographic or spectrophotometric), the implementation of sample preparation in conjunction with the choice of an available chromatographic method are given. The possibilities and limits of group determination by chromatographic methods are examined on model solutions. Adapted schemes of analysis by the method of HPLC in isocratic mode using minimal hardware design and the least toxic mobile phases based on acetonitrile are proposed. For some products, the isomeric composition was identified with the identification of the most active isomer (group of isomers).

**Keywords:** insecticidal substances, content determination, «pest control», active substance, pyrethroids, organo-phosphorus derivatives, neonicotinoids, phenylpyrazolones, carbamates, pyrroles, RP HPLC, GC.