

УДК 636.085.3:577.18:543

DOI: 10.26896/1028-6861-2017-83-18-22

БЫСТРЫЙ СКРИНИНГ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕОНИКОТИНОИДНЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ В ВОДЕ МЕТОДОМ УЛЬТРАВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ/КВАДРУПОЛЬ-ВРЕМЯПРОЛЕТНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

© В. Г. Амелин¹, Д. С. Большаков²*Статья поступила 22 мая 2017 г.*

Предложены быстрый скрининг и определение семи неоникотиноидных инсектицидов в природной и питьевой воде без пробоподготовки (ацетамиприда, динотефурана, имидаклоприда, клотианидина, нитенпирама, тиаклоприда и тиаметоксама) методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии/квадруполь-времяпролетной масс-спектрометрии высокого разрешения. Установлен незначительный матричный эффект от компонентов проб природной воды. Предложено два варианта определения неоникотиноидов в воде: методом стандартной добавки и с использованием градуировочного графика. Пределы обнаружения составили 0,01 – 1 нг/мл, диапазоны определяемых содержаний неоникотиноидов — 0,04 – 50(100) нг/мл. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышало 0,15, продолжительность анализа — 10 – 15 мин.

Ключевые слова: ультравысокоэффективная жидкостная хроматография; времяпролетная масс-спектрометрия высокого разрешения; анализ природных вод; неоникотиноидные инсектициды.

Неоникотиноиды — это новый класс инсектицидов, которые получили широкое распространение в сельском хозяйстве для протравливания садовых и полевых культур, обработки почв. Список разрешенных к применению инсектицидов этой группы в Российской Федерации включает более 30 препаративных форм на основе пяти действующих веществ: имидаклоприда, тиаклоприда, тиаметоксама, ацетилмиприда и клотианидина (Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, 2013). В настоящее время их используют как в качестве индивидуальных препаратов, так и в составе комбинированных инсектицидов [1]. Несмотря на высокую способность к метаболизации в организме насекомых и объектах окружающей среды, неоникотиноиды обнаруживают в продуктах питания [2], воде и почве [3]. Это, несомненно, приводит к поиску более эффективных и современных методов мониторинга остаточных количеств инсектицидных препаратов.

Для аналитического контроля неоникотиноидных инсектицидов в воде и других объектах используют методы высокоэффективной жидкостной хроматографии [4 – 8], мицеллярной электрокинетической хроматографии [9]. Однако предлагаемые варианты извлечения неоникотиноидов требуют длительной и достаточно сложной подготовки пробы с применением

токсичных растворителей. В основном используют твердофазную и жидкостно-жидкостную экстракцию. Ранее нами предложен вариант определения неоникотиноидных инсектицидов путем непосредственного ввода проб воды в электрораспылительное устройство масс-спектрометра [10]. Однако были отмечены влияние pH на ионизацию аналитов и значительный матричный эффект, который устраняли разбавлением пробы деионированной водой, что, естественно, снижало чувствительность определения.

В данной работе предложены быстрый скрининг и высокочувствительное определение неоникотиноидов в природной воде без пробоподготовки с использованием ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии/времяпролетной масс-спектрометрии высокого разрешения (УВЭЖХ/ВПМС) по точным массам ионов при электрораспылительной ионизации.

Аппаратура и реактивы. Использовали ультравысокоэффективный жидкостной хроматограф UltiMate 3000 (Thermo Scientific, США) в сочетании с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим детектором maXis 4G и устройство для электрораспылительной ионизации в ionBooster (Bruker Daltonics, Германия). Разделение проводили на колонке 30 × 2,1 мм ACQUITY UPLC® BEN C18 (1,7 мкм) (Waters, США) в режиме градиентного элюирования.

Использовали стандартные образцы индивидуальных пестицидов чистотой 98,0 – 99,5 % (Dr. Ehrenstorfer, Германия): тиаметоксама (С 17453000), нитенпирама (С 15535000), ацетамиприда (С 10013000), клотианидина (С 11691700), тиаклоприда (С 17451000),

¹ Владимирский государственный университет им. А. Г. и Н. Г. Столетовых, г. Владимир, Россия; e-mail: amelinvg@mail.ru

² Федеральный центр охраны здоровья животных, г. Владимир, Россия.

динотефурана (С 12820000), имидаклоприда (С 14283700). Растворы с концентрацией 100 мкг/мл готовили растворением соответствующих навесок в ацетонитриле, а рабочие растворы — разбавлением исходных водой. В работе использовали деионизированную воду (15 – 18 МОм/см, ТУ 2123-002-00213546–2004), а также ацетонитрил, метанол, муравьиную кислоту, изопропанол (Merck, Германия).

Пробоподготовка. Образцы воды фильтровали через мембранный ацетатно-целлюлозный фильтр (ФМАЦ 0,2 мкм, Владикарт, Россия) и использовали для анализа.

Идентификация и определение. Идентификацию неоникотиноидов проводили с использованием программного продукта DataAnalysis-4.1, TargetAnalysis (Bruker Daltonics, Германия), составление картины изотопного распределения аналитов — с использованием IsotopePattern (Bruker Daltonics, Германия). Концентрацию аналита в пробе определяли по градуировочному графику или рассчитывали методом стандартной добавки по формуле

$$c_x = \frac{c_{\text{доб}}}{S_{x+\text{доб}}/S_x - 1},$$

где $c_{\text{доб}}$ — концентрация добавки в пробе, нг/мл, S_x , $S_{x+\text{доб}}$ — площади пиков m/z в исследуемом растворе и в растворе с добавкой аналита соответственно.

Оценка матричного эффекта. Матричный эффект (МЭ) обусловлен влиянием присутствующих в пробе компонентов на процесс ионизации целевых аналитов. В условиях электрораспылительной ионизации эти компоненты могут как усиливать (+), так и понижать (–) интенсивность сигнала аналита. МЭ оценивали с помощью значений тангенса угла наклона градуировочных графиков, построенных с использованием растворов, приготовленных на деионизированной воде и с добавлением матрицы, не содержащей целевых аналитов. Расчет МЭ проводили по формуле [11]:

$$\text{МЭ (\%)} = (A/B - 1) \cdot 100,$$

где A , B — тангенсы углов наклона градуировочных графиков, полученных для растворов матрицы и приготовленных на деионизированной воде соответственно.

Условия хроматографического разделения и детектирования. Подвижная фаза состояла из 0,1 %-ной муравьиной кислоты в воде (A) и 0,1 %-ной муравьиной кислоты в ацетонитриле (B). Осуществляли градиентное элюирование: 0 мин — 5 % B , 0,5 мин — 5 % B , 2 мин — 100 % B , 3 мин — 100 % B , 3,2 мин — 5 % B , 5 мин — 5 % B . Скорость потока подвижной фазы составляла 0,4 мл/мин, оптимальная температура хроматографической колонки — 50 °С, объем вводимой пробы — 50 мкл, температура термостата автосамплера — 10 °С.

Использовали электрораспылительную ионизацию в устройстве ionBooster (Bruker Daltonics, Германия). Установлены следующие оптимальные значения параметров: напряжение на щите капилляра — 400 В, на капилляре — 1000 В, давление газа-распылителя (азота) — 4,76 атм, поток газа-осушителя (азота) — 6 л/мин, температура газа-осушителя — 200 °С, поток газа-испарителя (азота) — 250 л/ч, температура газа-испарителя — 250 °С.

Диапазон регистрируемых масс ионов — 200 – 500 Да. Для калибровки использовали 10 мМ раствор формиата натрия в смеси вода — изопропанол (1:1) в интервале хроматографирования 4,5 – 5 мин.

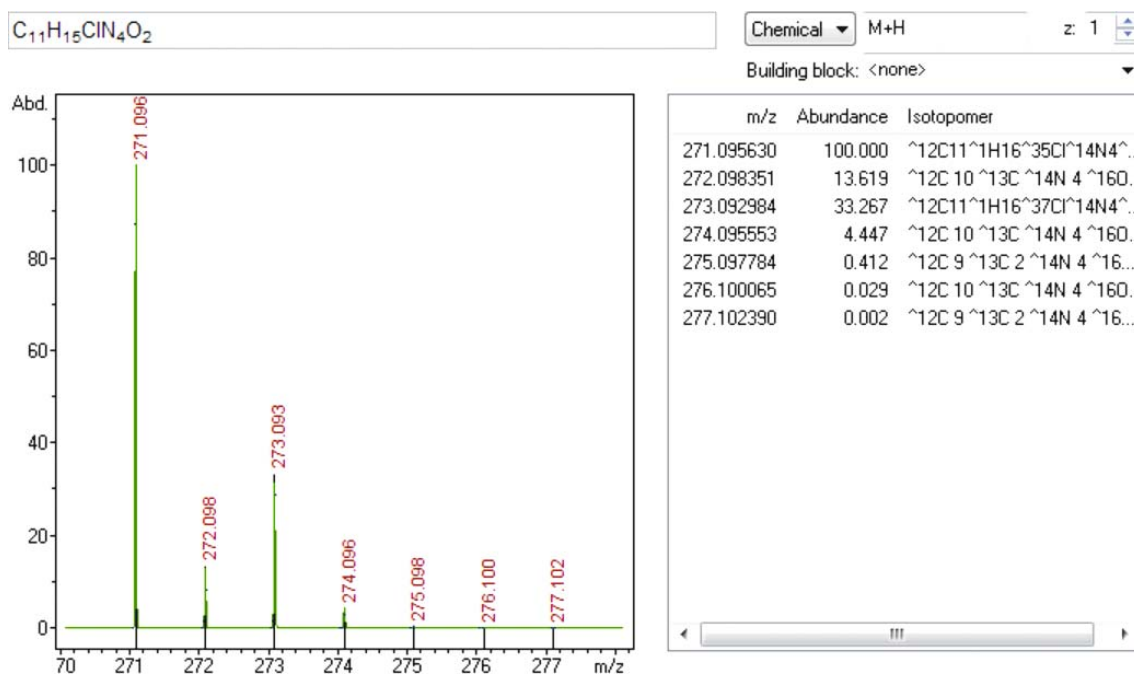
Все исследуемые неоникотиноидные инсектициды в условиях электрораспылительной ионизации образуют протонированные формы $[M + H]^+$ (табл. 1). В значительной степени стабильность протонированных форм обусловлена строением неоникотиноидов, а именно наличием атома азота с неподеленной парой электронов в составе пиридинового и/или тиазольного кольца.

Погрешность определения масс ионов не превышала $\pm 0,5$ ppm ($n = 3$). В табл. 1 указаны пределы обнаружения ($c_{\text{мин}}$) и пределы определения ($c_{\text{н}}$) для природной воды, установленные по соотношению сигнал/шум, равному 3 и 10 соответственно. Пределы обнаружения составили от 0,01 до 1 нг/мл, что позволяет определять неоникотиноидные инсектициды на существенно более низком уровне, чем установленные предельно-допустимые концентрации [14].

При использовании в качестве матрицы природных вод, содержание основных компонентов которых указано в табл. 2, наблюдали незначительный матричный эффект, приводящий к незначительному снижению или повышению интенсивности сигнала рассмат-

Таблица 1. Основные характеристики неоникотиноидов

Аналит	Брутто-формула	Моноизотопная масса, m/z	t_R , мин	Δ , ppm	$c_{\text{мин}}$, нг/мл	$c_{\text{н}}$, нг/мл
Ацетамиприд	$C_{10}H_{11}ClN_4$	223,0745	3,60	0,1	0,1	0,3
Динотефуран	$C_7H_{14}N_4O_3$	203,1139	0,92	0,5	0,01	0,05
Имидаклоприд	$C_9H_{10}ClN_5O_2$	256,0596	3,32	–0,5	0,2	0,6
Клотианид	$C_6H_8ClN_5O_2S$	250,0160	3,12	0,1	1	3
Нитенпирам	$C_{11}H_{15}ClN_4O_2$	271,0956	1,87	0,3	0,01	0,04
Тиаклоприд	$C_{10}H_9ClN_4S$	253,0309	3,77	–0,5	0,2	0,6
Тиаметоксам	$C_8H_{10}ClN_5O_3S$	292,0267	2,35	0,3	0,01	0,04



Масс-спектр нитенпирама, созданный программой IsotopePattern по brutto-формуле

риваемых аналитов в природных водах по сравнению с деионированной водой (не более 20 %). Согласно работе [12] МЭ можно пренебречь, когда его значения находятся в диапазоне между –20 и +20 %.

Идентификацию осуществляли с использованием программного обеспечения TargetAnalysis по точной массе иона (± 1 ppm) и совпадению характера изотопного распределения (параметр $mSigma \leq 30$) (рисунок). В случае обнаружения массы иона (m/z), соответствующей определенному неоникотиноиду, в анализируемую пробу вводили такое количество стандартного раствора обнаруженного аналита, чтобы ин-

тенсивность пика увеличилась в 2 – 3 раза, затем по ее значению рассчитывали концентрацию аналита. По сравнению с методом градуировочного графика (табл. 3) применение данного приема снижает необходимое количество дорогостоящих стандартных образцов сравнения, не требует периодической проверки стабильности градуировочных характеристик, повышает точность определения и нивелирует матричный эффект [13].

В табл. 4 представлены результаты оценки правильности предлагаемой методики. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышало 0,15.

При сопоставлении полученных результатов (см. табл. 4) установлено, что использование методов стандартной добавки и градуировочного графика дает близкие результаты. Это подтверждает преимущества метода добавок при определении инсектицидов в объектах окружающей среды.

Таким образом, в работе показана возможность быстрого скрининга и определения неоникотиноидных инсектицидов в природной и питьевой воде без пробоподготовки методом УВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием высокого разрешения. Идентификацию аналитов проводили по трем параметрам — времени удерживания, точной массе иона пестицида и характеру его изотопного распределения в масс-спектре ($mSigma$). Обнаруженные пестициды определяли методами градуировочного графика и стандартных добавок. Установлен незначительный матричный эффект от компонентов проб природной воды. Пределы обнаружения неоникотиноидов в природной воде составили 0,01 – 1 нг/мл, диапазоны определяемых содержаний — 0,04 –

Таблица 2. Состав природных вод, использованных для разработки методики определения неоникотиноидов

Показатель	Содержание, мг/л	
	Минеральная вода	Артезианская вода
Аммоний	0,1 – 0,4	0,1 – 0,4
Натрий	1087 – 1156	5 – 30
Магний	37 – 45	2 – 3
Барий	0,03 – 0,05	0,01 – 0,09
Хлориды	684 – 704	12 – 21
Нитриты	0,2 – 0,3	0,2 – 0,3
Фториды	0,2 – 1,5	20 – 40
Жесткость, мМ	6 – 8	1 – 3
Калий	1 – 4	7 – 17
Литий	0,14 – 0,16	0,01 – 0,1
Стронций	1 – 2	0,3 – 2
Кальций	50 – 80	15 – 20
Нитраты	0,2 – 0,3	0,2 – 0,3
Сульфаты	1200 – 1422	15 – 50
Фосфаты	0,2 – 0,3	0,2 – 1,8
pH, ед.	7 – 9	7 – 8

Таблица 3. Уравнения градуировочных зависимостей и значения матричного эффекта при определении неоникотиноидов в минеральной и артезианской водах

Аналит	Уравнения градуировочных графиков в диапазоне 0,01(1) – 50(100) нг/мл	R^2	МЭ, % ($n = 3$)	
			Минеральная вода	Артезианская вода
Ацетамиприд	$y = 22980x + 11974$	1,0000	–20	–3,3
Динотефуран	$y = 307351x + 2135476$	0,9933	–19	–4,4
Имидаклоприд	$y = 34892x + 33686$	0,9997	–13	–3,5
Клотианид	$y = 2830x + 5682$	0,9993	–16	–1,9
Нитенпирам	$y = 1165453x + 4123458$	0,9977	–1,1	0
Тиаклоприд	$y = 16759 + 21628$	0,9996	–15	+2,7
Тиаметоксам	$y = 515937x + 2315734$	0,9972	–8,3	+0,7

Таблица 4. Результаты определения (нг/мл) неоникотиноидов в воде методами стандартной добавки (I) и градуировочного графика (II) ($n = 3$; $P = 0,95$)

Образец	Обнаруженный инсектицид	I	s_r	II	s_r
Вода минеральная (введено 5 нг/мл)	Ацетамиприд	$4,2 \pm 0,7$	0,10	$5,1 \pm 0,8$	0,11
	Динотефуран	$5,2 \pm 0,6$	0,11	$4,2 \pm 0,6$	0,09
	Имидаклоприд	$5,0 \pm 0,2$	0,05	$4,7 \pm 0,3$	0,07
	Клотианид	$4,8 \pm 0,5$	0,09	$4,9 \pm 0,3$	0,08
	Нитенпирам	$5,3 \pm 0,3$	0,11	$4,6 \pm 0,3$	0,07
	Тиаклоприд	$4,9 \pm 0,5$	0,10	$5,9 \pm 0,5$	0,11
	Тиаметоксам	$5,2 \pm 0,3$	0,10	$5,1 \pm 0,5$	0,12
Вода артезианская (введено 5 нг/мл)	Ацетамиприд	$5,1 \pm 0,5$	0,07	$4,9 \pm 0,7$	0,10
	Динотефуран	$5,5 \pm 0,6$	0,09	$5,2 \pm 0,4$	0,11
	Имидаклоприд	$5,6 \pm 0,6$	0,12	$5,3 \pm 0,3$	0,08
	Клотианид	$4,9 \pm 0,4$	0,10	$4,7 \pm 0,6$	0,09
	Нитенпирам	$5,4 \pm 0,7$	0,07	$4,9 \pm 0,4$	0,07
	Тиаклоприд	$4,7 \pm 0,4$	0,12	$4,9 \pm 0,6$	0,10
	Тиаметоксам	$5,0 \pm 0,4$	0,08	$5,4 \pm 0,5$	0,09

50(100) нг/мл. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышало 0,15, продолжительность анализа — 10 – 15 мин.

ЛИТЕРАТУРА

- Амелин В. Г., Большаков Д. С., Третьяков А. В. Идентификация и определение синтетических пиретроидов, хлорпирифоса и неоникотиноидов в воде методами газовой и жидкостной хроматографии / Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67. № 4. С. 398 – 403.
- Большаков Д. С., Амелин В. Г., Никешина Т. Б. Сочетание пробоподготовки QuEChERS и мицеллярной электрокинетической хроматографии при определении неоникотиноидных инсектицидов в овощах и фруктах / Аналитика и контроль. 2015. Т. 19. № 1. С. 59 – 68.
- Амелин В. Г., Андоралов А. М. Высокоэффективная жидкостная хроматография — времяпролетная масс-спектрометрия в идентификации и определении 111 пестицидов в пищевых продуктах, кормах, воде и почве / Журн. аналит. химии. 2016. Т. 71. № 1. С. 85 – 96.
- Guand-Guo Y., Rai S. K. Simultaneous determination of imidacloprid, thiacloprid, and thiamethoxam in soil and water by high-performance liquid chromatography with diode-array detection / J. Environ.-Sci. Health. B. 2004. Vol. 39. P. 737 – 746.
- Sanches-Bayo F., Hyne R. V. Detection and analysis of neonicotinoids in river waters — Development of a passive sampler for three commonly used insecticides / Chemosphere. 2014. Vol. 99. P. 143 – 151.
- Schaafsma A., Limay-Rios V., Baute T., et al. Neonicotinoid insecticide residues in surface water and soil associated with commercial maize (corn) fields in southwestern Ontario / PLOS ONE. 2015. Vol. 10. P. 21.
- Liu S., Zheng Z., Wei F., et al. Simultaneous determination of seven neonicotinoid pesticide residues in food by ultraperformance liquid chromatography tandem mass spectrometry / J. Agric. Food Chem. 2010. Vol. 58. P. 3271 – 3278.
- Xiao Z., Yanga Y., Lia Y., et al. Determination of neonicotinoid insecticides residues in eels using subcritical water extraction and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry / Anal. Chim. Acta. 2013. Vol. 777. P. 32 – 40.
- Амелин В. Г., Большаков Д. С., Третьяков А. В. Определение неоникотиноидов (имидаклоприда, тиаметоксама, ацетамиприда) в воде методом капиллярного электрофореза / Вода: химия и экология. 2012. № 9. С. 76 – 80.
- Амелин В. Г., Большаков Д. С., Андоралов А. М. Определение неоникотиноидных инсектицидов в природных водах методом времяпролетной масс-спектрометрии высокого разрешения путем непосредственной электрораспылительной ионизации образцов / Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 2. С. 153 – 157.
- Stahnke H., Kittlaus S., Kempe G. N., Alder L. Reduction of matrix effects in liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry by dilution of the sample extracts: how much dilution is needed? / Anal. Chem. 2012. Vol. 84. P. 1474 – 1482.
- Ferrer C., Lozano A., Aguera A., et al. Overcoming matrix effects using the dilution approach in multiresidue methods for fruits and vegetables / J. Chromatogr. A. 2011. Vol. 1218. P. 7634 – 7639.
- Amelin V., Korotkov A., Andorlov A. Identification and determination of 492 contaminants of different classes in food and feed by high-resolution mass spectrometry using the standard addition method / J. AOAC Int. 2016. Vol. 99. N 6. P. 1600 – 1618.
- ГН 1.2.3111–13. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень). — М., 2014. — 133 с.

UDC 636.085.3:577.18:543

RAPID SCREENING AND DETERMINATION OF NEONICOTINOID INSECTICIDES IN WATER USING ULTRA-HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY/QUADRUPOLE-TIME-OF-FLIGHT MASS SPECTROMETRY OF HIGH RESOLUTION

© V. G. Amelin and D. S. Bolshakov

Submitted May 22, 2017.

Ultra-high-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry of high resolution is used for rapid screening and determination of seven neonicotinoid insecticides (acetamiprid, dinotefuran, imidacloprid, clotianidin, nitenpyram, thiacloprid and thiamethoxam) in natural and potable water without sample preparation. An insignificant matrix effect is observed from the components of natural water samples. Two modifications of neonicotinoid determination in water are considered: i) standard addition method and ii) calibration curve. The detection limits and determinable contents of neonicotinoids range within 0.01–1 ng/ml and 0.04–50(100) ng/ml, respectively. The relative standard deviation of the analysis results did not exceed 0.1, the analysis duration was 10–15 min.

Keywords: ultra-high-performance liquid chromatography; high-resolution time-of-flight mass spectrometry; analysis of natural water; neonicotinoid insecticides.

REFERENCES

1. Amelin V. G., Bolshakov D. S., Tretjakov A. V. Identification and determination of synthetic pyrethroids, chloropyrifos, and neonicotinoids in water by gas and liquid chromatography / *J. Anal. Chem.* 2012. Vol. 67. N 4. P. 354–359.
2. Bol'shakov D. S., Amelin V. G., Nikeshina T. B. Combining QuEChERS preparation and micellar electrokinetic chromatography for determination of neonicotinoid insecticides in fruit and vegetables / *Analit. Kontrol'*. 2015. Vol. 19. N 1. P. 59–68 [in Russian].
3. Amelin V. G., Andoralov A. M. High-performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry in the identification and determination of 111 pesticides in food, feed, water, and soil / *J. Anal. Chem.* 2016. Vol. 71. N 1. P. 82–93.
4. Guand-Guo Y., Rai S. K. Simultaneous determination of imidacloprid, thiacloprid, and thiamethoxam in soil and water by high-performance liquid chromatography with diode-array detection / *J. Environ. Sci. Health. B.* 2004. Vol. 39. P. 737–746.
5. Sanches-Bayo F., Hyne R. V. Detection and analysis of neonicotinoids in river waters — Development of a passive sampler for three commonly used insecticides / *Chemosphere.* 2014. Vol. 99. P. 143–151.
6. Schaafsma A., Limay-Rios V., Baute T., et al. Neonicotinoid insecticide residues in surface water and soil associated with commercial maize (corn) fields in southwestern Ontario / *PLOS ONE.* 2015. Vol. 10. P. 21.
7. Liu S., Zheng Z., Wei F., et al. Simultaneous determination of seven neonicotinoid pesticide residues in food by ultraperformance liquid chromatography tandem mass spectrometry / *J. Agric. Food Chem.* 2010. Vol. 58. P. 3271–3278.
8. Xiaoa Z., Yanga Y., Lia Y., et al. Determination of neonicotinoid insecticides residues in eels using subcritical water extraction and ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry / *Anal. Chim. Acta.* 2013. Vol. 777. P. 32–40.
9. Amelin V. G., Bol'shakov D. S., Tret'yakov A. V. Determination of neonicotinoids (imidacloprid, thiamethoxam, acetamiprid) in water by capillary electrophoresis / *Voda Khimiya Ékol.* 2012. N 9. P. 76–80 [in Russian].
10. Amelin V. G., Bolshakov D. S., Andoralov A. M. Determination of neonicotinoid insecticides in natural waters by high-resolution time-of-flight mass-spectrometry with direct electrospray ionization of samples / *J. Anal. Chem.* 2017. Vol. 72. N 2. P. 178–182.
11. Stahnke H., Kittlaus S., Kempe G. N., Alder L. Reduction of matrix effects in liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry by dilution of the sample extracts: how much dilution is needed? / *Anal. Chem.* 2012. Vol. 84. P. 1474–1482.
12. Ferrer C., Lozano A., Aguera A., et al. Overcoming matrix effects using the dilution approach in multiresidue methods for fruits and vegetables / *J. Chromatogr. A.* 2011. Vol. 1218. P. 7634–7639.
13. Amelin V., Korotkov A., Andoralov A. Identification and determination of 492 contaminants of different classes in food and feed by high-resolution mass spectrometry using the standard addition method / *J. AOAC Int.* 2016. Vol. 99. N 6. P. 1600–1618.
14. GN 1.2.3111–13. Hygienic regulations of pesticides content in environmental objects. — Moscow, 2014. — 133 p. [in Russian].