

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений»

На правах рукописи

Мальцев Василий Константинович

**РАЗРАБОТКА И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ
ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ИНСЕКТИЦИДОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В
ЗАЩИТЕ МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР**

Шифр и наименование научной специальности:
4.1.3 «Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений»

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук
Лаптиеv Александр Борисович

Санкт-Петербург
2025

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ЗАЩИТА МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ.....	15
1.1 Масличные культуры и основы их защиты от вредителей	15
1.2 Инсектициды, разрешенные к применению для защиты масличных культур .	19
1.3 История и основные аспекты контроля остаточных количеств пестицидов....	22
1.3.1 Существующие методы пробоподготовки при определении остаточных количеств инсектицидов	24
1.3.3 Методы контроля хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в урожае масличных культур.....	29
1.3.4 Основы определения остаточных количеств пестицидов в масличных культурах	32
1.3.5 Факторы, влияющие на определение остаточных количеств и деградацию действующих веществ инсектицидов	34
1.4 Влияние пиретроидов и ФОС на естественных опылителей	36
1.4.1 Меры предотвращения отравления пчёл инсектицидами	39
1.4.2 Определение остаточных количеств инсектицидов в имаго пчёл	40
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	42
2.1 Материалы исследования.....	42
2.2 Методы исследования	43
ГЛАВА 3. ФИТОСАНИТАРНЫЕ И МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СОВМЕСТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ КОМБИНИРОВАННЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ	46
3.1 Биологическая эффективность комбинированного инсектицида при применении на посевах рапса ярового	46

3.2	Метод совместного определения остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина	48
3.3	Валидация метода для определения остаточных количеств инсектицидов в урожае подсолнечника и сои	56
ГЛАВА 4. АПРОБАЦИЯ РАЗРАБОТАННОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ИНСЕКТИЦИДОВ		61
4.1	Результаты контроля остаточных количеств циперметрина	61
4.2	Результаты совместного контроля остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина	66
4.3	Динамика деградации комбинированного инсектицида в растениях рапса ярового	68
4.4	Содержание остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина в растениях рапса при двукратной обработке	78
ГЛАВА 5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ИНСЕКТИЦИДОВ В ИМАГО МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ		84
5.1	Аспекты разработки метода определения хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в имаго медоносной пчелы	84
5.2	Подбор технологических приемов для очистки экстракта	88
5.3	Итоговый вариант метода определения остаточных количеств инсектицидов в имаго медоносной пчелы	92
5.4	Применение метода определения остаточных количеств инсектицидов в имаго медоносной пчелы	96
ЗАКЛЮЧЕНИЕ		98
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ		100
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ		101
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ		103

ПРИЛОЖЕНИЯ	121
Приложение 1	121
Приложение 2	122
Приложение 3	123
Приложение 4	124
Приложение 5	125

ВВЕДЕНИЕ

В производстве сельскохозяйственной продукции основой сохранения урожая культур однозначно выступают мероприятия по защите растений от вредных организмов, где базовыми элементами чаще всего выступают химические средства (ХСЗР). Отсюда следует, что наряду с получением биологических эффектов постоянно приходится решать вопросы, связанные с обеспечением безопасности как проводимых обработок для окружающей среды, так и урожая культур и получаемых из него пищевых продуктов. Все это осуществляется в первую очередь за счет соблюдения зарегистрированных для каждого препарата регламентов применения (нормы, сроки, кратность) и в дальнейшем контролем остаточных количеств конкретных действующих веществ (д.в.), основанном на использовании современной приборной базы и утвержденных Роспотребнадзором РФ методов.

Оба эти положения тесно взаимосвязаны и имеют особое практическое значение в отношении группы пестицидов, которые предназначены для борьбы с вредными насекомыми, так как преобладающее большинство веществ с инсектицидным действием характеризуются высокой биологической активностью в отношении и теплокровных, и полезных (энтомофаги, опылители) обитателей агроценозов культур.

В плане расширения инсектицидных обработок в последнее время внимание концентрируется на защите нескольких важных, прежде всего с точки зрения экономики, культурах, среди которых на данный момент явно выделяется группа, являющейся сырьевой базой для получения растительного масла. В целом основу его производства в стране составляют подсолнечник, посевы которого по данным Росстата приближаются к 10, соя с размещением более, чем на 4 и рапс в составе ярового и озимого – уже свыше 2,7 миллионов гектаров. Наряду с этим наметилась тенденция на увеличение площадей, занимаемых такими культурами, как лён-масличный и горчица (Бюллетень ..., 2025).

Параллельно расширению площадей каждой из масличных культур и/или концентрации их в отдельных регионах страны многократно возрастают риски, связанные с распространением и жизнедеятельностью вредных насекомых в их посевах. Соответственно этот фактор препятствует реализации потенциала урожайности и может приводить к потере, в частности у рапса, до 40% урожая (Захаренко, 2018).

Отсюда постоянно присутствует необходимость в активных защитных мероприятиях посевов масличных культур, основывающихся преимущественно на химических средствах (ХСЗР). Учитывая, что средняя нагрузка по использованию инсектицидов в Российской Федерации в 2023 году составляла по препарату около 0,13 кг/га, общий объем их расхода в рамках защиты только основных масличных культур может составлять ежегодно от 1,5 до 2 тысяч тонн (Говоров и др., 2024). Соответственно есть потребность в расширении и совершенствовании ассортимента средств защиты растений от вредителей, разрешенных к применению на посевах масличных культур. При этом процесс направлен не только на повышение биологических эффектов, но и, что не менее важно, на их стабилизацию за счет модернизации набора инсектицидов, где предпочтение переходит к комбинированным препаратам, на долю которых в группе данных пестицидов приходится уже более 25%. Применение инсектицидов на основе двух и более д.в. в стране приближается уже к 1000 тонн при том, что общий объем в последние годы составляет по данной группе средств от 5 до 5,2 тысяч (Говоров и др., 2024).

На этом фоне практически одновременно с биологическим аспектом в исследованиях по определению регламентов применения препаратов, как для получения безопасной продукции, так и в экологическом плане, с опорой на современную базу аналитических приборов разрабатываются методы контроля остаточных количеств конкретных действующих веществ в урожае масличных культур и получаемом из него масле с обязательной последующей апробацией. В этом направлении на момент начала изучения проблемы было известно, что уже действующими методическими указаниями (МУК) являлись такие как «Методические указания по определению остаточных количеств *бифентрина* в

капuste, зерне гороха, сои и соевом масле методом газожидкостной хроматографии» (МУК 4.1.2938-11 ..., 2011); «Определение остаточных количеств *циклоксидима* в воде, почве, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, клубнях картофеля, горохе, семенах подсолнечника, рапса, бобах сои и растительном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии» (МУК 4.1.3236-14 ..., 2014); «Определение остаточных количеств *фипронила* и его метаболита *фипронилсульфона* в зеленой массе, бобах сои, зерне кукурузы, семенах подсолнечника и растительном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии (МУК 4.1.3409-16 ..., 2016); «Определение остаточных количеств *дифлубензулона* в зеленой массе, клубнях картофеля, зерне кукурузы, бобах сои, семенах подсолнечника, рапса и растительных маслах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии» (Методические указания №9 ..., 2021) и т.д.

Актуальность темы исследования.

Изучение и применение химических средств защиты растений обязательно оценивается с целого ряда позиций, среди которых все же главными выступают биологическая эффективность и безопасность для окружающей среды и человека. Первый показатель определяет степень влияния препарата на распространение вредных организмов и, соответственно, сохранение урожая культуры, а также его качества; второй - направлен на исключение или в крайнем случае на ограничение негативных последствий обработок пестицидами.

В плане повышения и стабилизации биологического эффекта в защите от вредных насекомых, в том числе и посевов масличных культур, приоритетным подходом все больше выступает использование комбинированных инсектицидов, которые за счет содержания веществ из разных химических классов призваны обеспечивать в отношении целевых объектов высокую начальную токсичность и пролонгацию действия до двух недель. В ассортименте средств борьбы с вредителями, разрешенных к применению на территории Российской Федерации и предназначенных непосредственно для защиты рапса, подсолнечника и сои, основательным инновационным потенциалом обладают препараты на основе

комбинирования действующих веществ, представляющих такие химические классы, как пиретроиды и фосфорорганические соединения (ФОС). Конкретно из первого класса чаще всего включаются, в том числе и отечественными производителями средств защиты, бифентрин и циперметрин с целесообразным использованием всех его изомеров; из второго – довольно широко хлорпирифос (Государственный каталог ..., 2021, Государственный каталог ..., 2024).

Расширение спектра препаратов на основе любой комбинации из указанных д.в. по имеющимся в литературе данным (Эффективность применения ..., 2024) однозначно улучшает биологические показатели защитных мероприятий. Однако анализ растительного материала на содержание остаточных количеств их действующих веществ в составе комбинированных инсектицидов остается длительным, а значит весьма затратным, как в рабочем, так и финансовом плане, процессом. Здесь для каждого компонента препарата предполагается персональный подбор из уже существующих и часто устаревших методик, каждая из которых подразумевает персональную пробоподготовку с последующим индивидуальным анализом.

Всесторонний анализ сложившейся ситуации позволяет заключить, что разработка универсальных методик, обеспечивающих совместное определение остаточных количеств двух и более действующих веществ, находящихся в составе комбинированного инсектицида, является не только необходимым, но и приоритетным направлением. К тому же данная задача выглядит вполне реализуемой, исходя из уже имеющихся публикаций, касающихся, в частности, фунгицидных комбинаций (Амелин, 2013).

Степень разработанности проблемы. На фоне информации о результатах исследований комбинированных препаратов в ракурсе биологических эффектов (Шорохов, Кривченко, 2024), разработки новых методов совместного определения остаточных количеств хотя бы двух инсектицидных действующих веществ не так обширны. В литературе имеется немного работ, объединяющих в себе современные подходы к пробоподготовке и определению в сочетании с наиболее

доступным в сложившейся экономической ситуации аналитическим прибором - газожидкостным хроматографом с детектором электронного захвата (CVD grown ..., 2020; Оценка содержания ..., 2021). Естественно, существуют индивидуальные методики определения остаточных количеств исследуемых в нашей работе действующих веществ. Из наиболее практикуемых среди них выделяются такие, как например МУК 4.1.1837-04 ..., 2004; МУК 4.1.2674-10 ..., 2010; МУК 4.1.2918-11 ..., 2011. Они зарегистрированы и имеют статус государственных, но уже явно не соответствуют современным требованиям к аналитическим исследованиям в области защиты растений. К тому же использование таких методик затрудняется как увеличением доли комбинированных препаратов, так и довольно интенсивным развитием в современных условиях аналитического оборудования.

Важной проблемой при возделывании и защите масличных культур остается воздействие применяемых средств борьбы на пчёл (Илларионов и др., 2024), присутствие которых в посевах особенно подсолнечника не только естественно, но и необходимо (Роль опыления ..., 2016). Поэтому крайне важно обладать методическими разработками, позволяющими осуществлять быстрый и качественный контроль остаточных количеств инсектицидов в имаго медоносных пчел в условиях их применения с нарушениями регламентных и законодательных положений (Федеральный закон №490-ФЗ ..., 2020). Работы в этом направлении, судя по имеющимся в литературе публикациям, ведутся уже давно (Residues of neonicotinoid ..., 2012) и активно (Pesticides residues ..., 2021). Однако за рубежом внимание больше приковано к проблеме гибели пчел в условиях широкого использования неоникотиноидов (Neonicotinoids in bees ..., 2012; Impacts of neonicotinoid ..., 2021). В то же время в России зарегистрирован патент на разработку способа определения д.в. из данного химического класса в подморе пчёл (Патент № 2730399 ..., 2020).

Цель исследований – разработать метод одновременного определения остаточных количеств действующих веществ, составляющих основу современных комбинированных инсектицидов, применяемых в защите масличных культур.

Для достижения поставленной цели и реализации темы работы в целом было необходимо решить следующие задачи:

- оценить современное состояние ассортимента средств защиты масличных культур от вредителей и определить приоритетные направления в его формировании;

- разработать метод совместного определения остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в зеленой массе, урожае и получаемом из него масле, используя в качестве тестовой культуры рапс яровой;

- изучить динамику деградации хлорпирифоса и бифентрина в растениях рапса ярового после применения в том числе разных норм одного из комбинированных инсектицидов;

- осуществить валидацию разработанного метода применительно к другим (подсолнечник и соя) масличным культурам с последующей апробацией на их растительных образцах, полученных в процессе изучения комбинированных препаратов;

- усовершенствовать метод совместного определения остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина применительно к выявлению причин гибели имаго медоносной пчелы.

Научная новизна. Впервые разработан метод совместного определения в растительном материале остаточных количеств сразу трех действующих веществ (хлорпирифос, бифентрин и циперметрин, включая изомеры), на основе которых в настоящее время активно создаются и применяются комбинированные инсектициды, обладающие широким спектром действия. Впервые было применено сочетание, инновационного подхода к пробоподготовке из зеленой массы, урожая и получаемого из него масла с классическим аналитическим методом.

Данная разработка однозначно позволила увеличить эффективность использования газожидкостного хроматографа с детектором электронного захвата при аналитических исследованиях растительного материала и масла основных масличных культур: рапса, подсолнечника и сои. При этом доказана возможность

уникальной совместной идентификации остаточных количеств сразу нескольких действующих веществ инсектицидного назначения.

С использованием разработанного метода, установлена динамика деградации хлорпирифоса и бифентрина в растениях рапса и определено влияние метеоусловий на скорость разложения данных действующих веществ.

Определенно новым в результатах проведенных исследований является возможность, контроля остаточных количеств инсектицидов в имаго медоносной пчелы, неоднократно подтвержденная экспериментально.

Усовершенствованный метод позволяет определять концентрации хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина на уровнях кратно меньших, чем ЛД₅₀, в первую очередь благодаря сочетанию оригинальной пробоподготовки и чувствительному методу анализа.

Теоретическая и практическая значимость работы.

В теоретическом плане показаны возможности и направления в области контроля остаточных количеств, в частности инсектицидов, в растениях, урожае и продукте его переработки по основным масличным культурам. Доказано, что благодаря совершенствованию элементов и направленному подбору реагентов в процессе подготовки анализируемых проб, можно создавать методы, адаптированные к современной приборной базе и обеспечивающие совместное определение нескольких д.в. на одновременно очень низких (до 0,005 мг/кг) пределах обнаружения и достаточно высоких (до 92%) уровнях извлечения.

Полученные в ходе исследований результаты дополняют представления о деградации конкретных (хлорпирифос и бифентрин) веществ инсектицидного действия и влияния на этот процесс абиотических факторов.

Практическая значимость работы заключается в разработке метода совместного определения хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в растительном субстрате масличных культур. Он позволяет исследовать остаточное содержание указанных действующих веществ в любом сочетании, что имеет практическое значение при использовании комбинированных инсектицидов.

По результатам работ, охватывающих исследования и обобщения литературных материалов, была сформирована и зарегистрирована база данных «Данные по определению остаточных количеств инсектицидов при защите масличных культур» (Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2024623607 от 16.08.2024). Она предназначена для информационного обеспечения и практического руководства при выборе методов анализа конкретной растениеводческой продукции на содержание остаточных количеств химических средств борьбы с вредителями.

Методология и методы исследования.

В ходе диссертационного исследования были применены общепринятые методы проведения полевого эксперимента: планирование и закладка эксперимента проводилась в соответствии с положениями «Методики полевого опыта» (Доспехов, 1985) и рекомендациями «Методических указаний по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, феромонов, моллюскоцидов и родентицидов в растениеводстве» (Долженко и др., 2022).

В качестве базы для формирования процесса подготовки проб растительного материала применялся модифицированный подход QuEChERS (EN 15662:2018) в сочетании с экспериментальным подбором компонентов и задействованием метода физико-химического анализа на основе газожидкостной хроматографии с детектором электронного захвата.

Статистическая обработка данных проводилась согласно национальному стандарту РФ ГОСТ Р 50779.22-2005 с использованием программного пакета Microsoft EXCEL. Коэффициенты полураспада рассчитывались с помощью программы R 3.1.1. с установленным расширением PestDF.

Положения, выносимые на защиту:

1. Рациональный подход к подготовке проб из растительного материала масличных культур в сочетании с базой классического аналитического метода.

2. Метод совместного (в одной пробе) определения остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина, причем в любой их комбинации, в зеленой массе, урожае и получаемом из него масле основных (рапс, подсолнечник, соя) масличных культур и в имаго медоносной пчелы.

3. Результаты тестирования разработанного метода при практическом применении для контроля остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина.

Достоверность результатов исследования. Степень достоверности результатов исследований определяется значительным объемом полевых и лабораторных экспериментов с применением современной приборной базы, по итогам которых не только разработан оригинальный метод контроля остаточных количеств инсектицидов, но и на основании статистической обработки данных тестирования подтверждена результативность его применения.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были представлены на XI международной научно-практической конференции «Защита растений от вредных организмов» (г. Краснодар, 19-23 июня 2023 г.); VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты продовольственной безопасности» (г. Большие Вяземы, 21-23 ноября 2023 г.); V Всероссийском конгрессе по защите растений (г. Санкт-Петербург, 16-19 апреля 2024 г.) и 12-й Международной научно-практической конференции «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем» (г. Краснодар, 17-19 сентября 2024 г.).

Публикации. Основные результаты диссертационной работы изложены в 9 публикациях, в том числе в 2 статьях в журналах, рекомендованных ВАК РФ. Получено свидетельство о государственной регистрации за № 2024623607 от 16.08.2024 на базу данных «Данные по определению остаточных количеств инсектицидов при защите масличных культур» (в соавторстве).

Объём и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 125 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, выводов, списка литературы, списка публикаций по теме диссертации и 5 приложений. Работа иллюстрирована 26 рисунками и 21 таблицей, 5 из которых в приложении. Библиография включает 136 источников, 50 из них на иностранном языке.

Личный вклад автора. Диссертационная работа является результатом четырёхлетних исследований (2020 – 2024 гг.), выполненных лично автором в процессе обучения в аспирантуре ФГБНУ ВИЗР. Диссертанту принадлежит подготовка и проведение полевых экспериментов и лабораторных исследований, разработка оригинального метода совместного определения остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в любой их комбинации в урожае основных масличных культур и идея его валидации в направлении контроля данных инсектицидных д.в. в погибших имаго медоносной пчелы, а также анализ и интерпретация полученных результатов.

Благодарности. Выражаю искреннее признание научному руководителю моей аспирантской подготовки Лаптиеву Александру Борисовичу за помощь в планировании и проведении научного исследования. Особая благодарность за терпение и поддержку сотрудникам Центра биологической регламентации использования пестицидов ФГБНУ ВИЗР Комаровой А.С., Черменской Т.Д., Алексееву Е.Ю., Ивановой Г.И., а также за помощь в проведении полевых экспериментов заведующему сектором агробиоценологии Шпаневу Александру Михайловичу.

ГЛАВА 1. ЗАЩИТА МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ

1.1 Масличные культуры и основы их защиты от вредителей

Растительное масло является обязательным компонентом пищевого рациона и источником полезных веществ для организмов животных и людей. Помимо этого, они представляют собой незаменимые ингредиенты в технологиях пищевой промышленности.

К основным возделываемым в России масличным культурам, по данным А. А. Усенковой и Н. В. Кузнецовой (2020), относятся подсолнечник, соя и рапс, на их долю приходится около 95 % валового сбора маслосемян. Необходимо отметить, что Российская Федерация является активным экспортером растительных масел. Согласно исследованиям, с учетом роста потребности, в настоящее время, рапс и соя являются наиболее перспективными культурами для переработки в растительные масла с последующим экспортом (Гончаров, Карпачев, 2021).

Значительная часть пахотных земель, как утверждает В. М. Лукомец и соавт. (2015), в Российской Федерации располагается в климатических зонах с не самыми благоприятными для культурных растений характеристиками, как минимум по одному из основных климатических параметров, таких как продолжительность безморозного периода, сумма эффективных температур, годовая сумма осадков, сезонное распределение их выпадения, гидротермический коэффициент и других немаловажных показателей. Тем не менее практически на всей территории нашей страны успешно выращивается целый ряд масличных культур. Среди них, основные площади занимают подсолнечник, соя, яровой и озимый рапс. В последние годы по данным Росстата этот показатель уже превысил 15 миллионов гектаров, что при валовом сборе в 28 миллионов тонн свидетельствует о средней урожайности в 1,81 т/га (Бюллетень ..., 2025).

Основной масличной культурой в стране традиционно является подсолнечник, занимающий более половины пахотных площадей, отведенных под масличные. Данная культура представляет из себя светолюбивое, жаростойкое, факультативно короткодневное растение с глубоко проникающей корневой

системой. Растение может переносить как высокие летние температуры воздуха, так и недостаток влаги в почве. При этом способна без видимых повреждений выдерживать длительное воздействие низких положительных температур. Проростки могут переносить заморозки до минус 10 °С. Такие биологические особенности дают возможность высевать подсолнечник в ранние сроки весной. В целом, многолетняя эффективная селекция на повышение адаптивности к различным климатическим условиям позволяет возделывать его в настоящее время в большинстве регионов Российской Федерации с развитым сельскохозяйственным производством, за исключением северных границ пахотных земель с ГТК выше 1 (Лукомец и др., 2015).

Второй по значимости масличной культурой в нашей стране является соя. Как и в случае с подсолнечником, данная культура отличается повышенными требованиями к теплу и является высокочувствительным к длине дня растением. Именно поэтому возделывание данного объекта в северных регионах ведет к заметному удлинению вегетационного периода. Минимальная температура прорастания всходов сои составляет около 10 °С. Сами всходы способны переносить слабые заморозки до минус 2–3 °С. Однако целенаправленная селекция сои на повышенную холодоустойчивость и пониженную реакцию на изменение длины дня позволила создать холодоустойчивые сорта, способные прорасти уже при 6–7 °С, на стадии всходов выдерживая заморозки до минус 5 °С. Наряду с традиционным дальневосточным регионом, ежегодно значительно увеличиваются площади посева под соей на юге европейской части страны, в Центрально-Чернозёмном регионе, в Центральных районах Нечернозёмной зоны, в Поволжье и Сибири (Создание сортов ..., 2012; Зеленцов, Мошненко, 2013).

Рапс содержит яровую и озимую формы и отсюда определенно является одной из самых значимых масличных культур в Российской Федерации. Рапс относится к группе влаголюбивых растений длинного дня. Высокие температуры воздуха, дефицит влаги при ГТК менее 0,7 и высокие широты заметно ускоряют созревание культуры (Сычева, Казаков, 2015). Этим требованиям в значительной

степени отвечают природные и погодные условия северо-западного региона, где рапс яровой на данный момент является почти единственной масличной культурой.

Яровой рапс, по имеющимся данным, отмеченным Г. М. Осиповой и Д. А. Потаповым (2009), достаточно холодоустойчив, семена прорастают при температуре 1–3°C. Всходы культуры переносят заморозки до минус 3–5°C, а взрослые растения вегетируют даже при 2–3°C. Помимо этого, растения рапса умеренно чувствительны к типу почв и способны расти на разных типах, кроме тяжёлых глинистых, песчаных, кислых и заболоченных (Коновалова и др., 2022).

Озимый рапс обладает высокой устойчивостью к холоду. Однако для получения дружных всходов требуются температуры в диапазоне 14–17 °С. В отличие от ярового рапса, для формирования соцветий озимому необходимо пройти холодовую фазу. Хорошо закалённые осенью растения способны выдерживать зимние температуры до минус 12–17 °С на уровне корневой шейки, а при снежном покрове толщиной в 2–6 см могут переносить морозы до минус 22–25 °С. Тем не менее, климат северных регионов России, особенно Западной и Восточной Сибири, является неблагоприятным для выращивания озимого рапса из-за очень суровых зим и практически неизбежных ранневесенних заморозков. Растения хорошо развиваются на чернозёмах, серых лесных и оподзоленных почвах, однако плохо переносят засоленные и заболоченные кислые почвы (Ресурсосберегающая технология ..., 2010; Бушнев и др., 2020; Воловик, Шпаков, 2020).

С учетом возрастающей потребности в растительном масле особое значение для любой из культур этой группы приобретает защита от вредителей, болезней и сорной растительности. Среди этого комплекса вредных организмов, особое место занимают насекомые, поскольку их негативное воздействие приводит к снижению не только количественных, но и качественных показателей урожая. Усложнение ситуации при возделывании рапса, подсолнечника и сои связано с тем, что каждая из масличных культур повреждается фитофагами практически в течение всего периода вегетации, начиная со всходов и заканчивая созреванием урожая.

Явную и почти постоянную опасность для растений рапса, как и всех капустных культур, представляет капустная моль (*Plutella xylostella* L.). Повышение температурного режима, мягкие зимы, наличие крестоцветных сорняков и увеличение концентрации посевных площадей под крестоцветными культурами в последнее десятилетие способствовали накоплению и массовому распространению этого вредителя, в том числе в посевах рапса (Биологическая ..., 2023). При этом здесь часто требуется до 6 обработок, и лучший эффект достигается за счет препаратов на комбинированной основе. Подобная ситуация наблюдается во всех регионах возделывания культуры на территории России (Метод феромониторинга ..., 2020). В дополнение к этому, в фазу всходов рапсу интенсивно вредят крестоцветные блошки (*Phyllotreta* spp.), в фазу бутонизации – рапсовый цветоед (*Meligethes aeneus* F.) и семенной скрытнохоботник (*Ceuthorrhynchus assimilis* P.). Довольно часто растениям наносят повреждения и такие вредители как стеблевой капустный скрытнохоботник (*Ceutorhynchus pallidactylus* M.), стручковый комарик (*Dasineura brassicae* W.) и рапсовый листоед (*Entomoscelis adonidis* P.).

Среди вредителей сои, против которых производятся инсектицидные обработки в период всходов, основное значение имеют клубеньковые долгоносики (*Sitona* spp.) и озимая совка (*Agrotis segetum* D.). Ветвление растений сопровождается повышенной вредоносностью люцерновой совки (*Chloridea dipsacea* H.) и лугового мотылька (*Loxostege sticticalis* L.). До начала цветения особенно при наличии засушливых условий существенную опасность для растений культуры представляют паутинные клещи (*Tetranychus urticae* K.). Далее во время цветения и созревания бобов соя активно повреждается акациевой (бобовой) огневкой (*Etiella zenckeneila* T.), хлопковой совкой (*Helicoverpa armigera* H.) и соевой плодояркой (*Leguminivora glicinivorella* M.) (Пушня и др., 2020).

Важный вредитель подсолнечника – проволочники, распространенные повсеместно и наносящие серьезный урон урожаю в целом (Семеренко, 2020). Дополнительно к этому, как отмечает С. А. Семеренко (2020), опасность на этапе всходов представляют несколько видов долгоносиков и песчаный медляк, а

несколько позже и подгрызающие совки. Результатом жизнедеятельности любого из этих объектов или их присутствия во всяком сочетании является снижение густоты посева. В последнее время, по данным С. А. Семеренко очень активно с начала бутонизации и вплоть до уборки урожая посевам культуры наносят вред гусеницы хлопковой совки. В период активного роста и до цветения для растений культуры представляет опасность еще один многоядный вредитель – луговой мотылек, способный полностью уничтожить посевы.

Усложнению фитосанитарной ситуации в посевах любой из масличных культур способствует нарушение научно обоснованных схем севооборотов и, как следствие, размещение по сложным предшественникам. К этому можно добавить использование нерайонированных и экологически неадаптированных сортов и гибридов, а также тождественность состава вредных организмов сразу для нескольких культур.

Важно отметить, что оптимизация фитосанитарной обстановки при возделывании масличных культур есть залог получения качественной растениеводческой продукции. Добиться этого возможно только при соблюдении комплекса мероприятий, основу которых пока еще составляют приемы с использованием химических средств защиты растений. Благоприятно то, что ассортимент таких средств, зарегистрированных в Российской Федерации для применения на культурах данной группы, располагает широким спектром препаратов, предназначенных для защиты их посевов практически от всего комплекса (вредители, болезни и сорные растения) вредных организмов (Лаптев, 2020).

1.2 Инсектициды, разрешенные к применению для защиты масличных культур

Современный перечень препаратов, зарегистрированных в России для защиты масличных культур от вредителей, состоит преимущественно из химических средств. Ассортимент инсектицидов на биологической основе ограничен лишь небольшим перечнем наименований, таких как Лепидоцид в трех

(П, СК и Ж) препаративных формах; Инсетим, Ж (титр не менее 2×10^9 КОЕ/см³); Биослип БТ, П (титр не менее 1×10^{10} КОЕ/г); Дефилигнум, СК (титр не менее 10^{10} КОЕ/мл) и трехкомпонентный Биостоп, Ж (БА-2000 ЕА/мл, титр не менее $10^9 + 10^8 + 10^8$ КОЕ/мл), разработанные главным образом с использованием штаммов *Bacillus thuringiensis* и предназначенные только для защиты подсолнечника от гусениц младших возрастов лугового мотылька и/или хлопковой совки (Лаптиев, Мальцев, 2023).

В приоритете основ совершенствования ассортимента инсектицидов в последние годы стало актуальным комбинирование в одном препарате двух и более действующих веществ. Многие исследователи отмечают, что повышение доли таких инсектицидов позволяет расширить спектр действия в отношении видового состава вредных организмов, сократить кратность химических обработок и снизить пестицидную нагрузку (Михайликова, Стребкова, 2015; Долженко, Кривченко, 2021; Кривченко и др., 2022; Мальцев, Лаптиев, 2023а; Мальцев, Лаптиев, 2023б).

Исходя из содержания «Государственного каталога пестицидов ...», на рапсе в Российской Федерации разрешены к применению 24 действующих вещества, 144 наименования инсектицидов, 43 из которых комбинированные. Похожая ситуация складывается и с соей, где 24 из 60 препаратов имеют в своем составе два действующих вещества. Что касается подсолнечника, то здесь из 60 зарегистрированных четвертая часть представлена комбинированными инсектицидами.

Действующие вещества, входящие в состав средств борьбы с вредителями, применяемыми на масличных культурах, относятся к различным химическим классам. Большая часть действующих веществ инсектицидов, применяемых на этих объектах, относятся к пиретроидам (Гущина и др., 2008; Чирков, Москаленко, 2009; Илларионов, 2017). Помимо этого, активно регистрируются и применяются препараты на основе их комбинаций с фосфорорганическими веществами и неоникотиноидами (Кислицина и др., 2021; Будревич, Богомолова, 2022; Семеренко, Бушнева, 2023).

В последнее время имеет место тенденция, направленная на поиск новых инсектицидных д.в., более совместимых с окружающей средой в сравнении с классическими (Жемчужин и др., 2008). Таким статусом обладает, например, новый класс оксадиазины, к которым относится современный инсектицид индоксакарб. Его действие выражается в блокировании натриевых каналов нервных волокон у насекомых. Препараты на основе данного действующего вещества (Авант, КЭ), в том числе и в комбинации с пиретроидами (Промэкс, КЭ), применяются для защиты сои и рапса и имеют по сравнению с фосфорорганическими инсектицидами более низкие нормы применения и высокую эффективность (Коломыцева, Черкашин, 2018).

Еще одним современным химическим классом инсектицидов, использующимся в защите масличных, являются производные бензоилмочевины. Дифлубензурон (ингибитор синтеза хитина) в составе препаратов, применяемых на посевах рапса, используется как самостоятельно, так и в комбинациях с неоникотиноидами (Локустин, КС) и пиретроидами (Скарабей, СЭ) (Методические указания №9 ..., 2021). При чем последний, помимо рапса, разрешено применять на сое и подсолнечнике. Инсектициды на основе дифлубензурана обладают, в частности против капустной моли, крайне высокой (95-98%) биологической эффективностью в сочетании с продолжительным действием (Горбунов и др., 2020).

Анализ разработок в области химической защиты масличных культур и имеющихся нормативных документов позволил выделить наиболее часто используемые в комбинациях действующие вещества инсектицидов. В настоящее время в этом «рейтинге» преобладают циперметрин, бифентрин и хлорпирифос. Последнее из указанных действующих веществ относится к группе фосфорорганических соединений, обладающее определенным системным действием (Подгорная, Серова, 2010).

Хлорпирифос воздействует на нервную систему насекомых путем ингибирования ацетилхолинэстеразы. Бифентрин и циперметрин принадлежат к классу синтетических пиретроидов с выраженным контактным действием и

блокируют передачу нервных импульсов. Отличительной чертой циперметрина является наличие нескольких изомеров, применяемых в составе препаратов как индивидуально, так и в смеси.

Особенностью представленных действующих веществ с точки зрения аналитической химии является наличие в их молекулах одного и более атома хлора, что является определяющим маркером при выборе метода анализа их остаточных количеств.

Инсектициды с содержанием указанных выше действующих веществ зарегистрированы (Беретта, МД; Нурбел, КЭ; Пирелли, КЭ; Циклон, КЭ; Шаман, КЭ и др.) и уже достаточно активно применяются в защите посевов масличных культур от широкого набора насекомых-вредителей, таких как крестоцветные блошки, рапсовый пилильщик, капустная моль, хлопковая совка и луговой мотылек (Шорохов, Долженко, 2013; Кулагин, Кудашкин, 2021; Бушнев и др., 2021; Эффективность применения ..., 2023). Исследователи однозначно указывают на высокую эффективность подобных инсектицидов, сопряженную с хорошей продолжительностью защитного действия.

1.3 История и основные аспекты контроля остаточных количеств пестицидов

Реалии таковы, что уже более 60 лет в нашей стране функционирует государственная система всестороннего изучения с последующей регистрацией средств, предназначенных для защиты растений от вредных организмов.

Одной из ведущих организаций в рамках проводимых в этом направлении работ является Всероссийский институт защиты растений (ВИЗР). Исследования здесь проводятся еще с 70-х годов прошлого столетия. При этом за ВИЗР был закреплен статус головного научного учреждения по установлению биологической эффективности пестицидов из всех групп и подготовке обоснований для регистрации новых препаратов. Много сил, знаний и опыта при формировании методических положений проведения испытаний препаратов, решении организационных вопросов и повышении квалификации научных кадров

токсикологических лабораторий отдали ведущие ученые ВИЗР: И. М. Поляков, П. В. Сазонов, Н. А. Шипинов, Д. М. Пайкин, Г. А. Чигарев, А. А. Шумакова, К. В. Новожилов и многие другие (Долженко, Новожилов, 2010). В настоящее время лаборатория биологической регламентации использования пестицидов ВИЗР под руководством Виктора Ивановича Долженко продолжает разрабатывать регламенты применения новых препаратов, основываясь на почти 65-летнем опыте работы ведущих в данной области ученых ВИЗР.

В процессе разработки, регистрации и внедрения в системы защиты растений новых инсектицидов обязательно оценивается их безопасность. Для проведения соответствующей оценки контролируется содержание остаточных количеств действующих веществ в растительной продукции и продуктах ее переработки, а также изучаются динамики их деградации с момента обработки культуры и вплоть до уборки урожая.

Учеными ВИЗР одновременно с появлением новых препаратов разрабатываются и регистрируются современные методические указания по определению остаточных количеств этих пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды. Достоинными примерами здесь могут служить методика определения азоксистробина и его метаболита в корнеплодах моркови методом ВЭЖХ, разработанная коллективом в составе Т.Д. Черменская, А.А. Далинова, Д.Р. Салимова и И.А. Цыбульская (2021); методика определения глюофосината аммония и его метаболита в ботве и клубнях картофеля и зерне и соломе зерновых колосовых культур методом ВЭЖХ-МС, разработанная В.В. Человечковой, Т.Д. Черменской и Н.С. Волосатовой (2021) (Методические указания №9 ..., 2021; Методические указания №10 ..., 2021).

Что касается определения остаточных количеств инсектицидов в растительных объектах и продуктах переработки урожая, принципиально данный процесс можно разделить на два этапа: пробоподготовка и непосредственно анализ. Стадия пробоподготовки состоит из стандартного набора процедур, таких как экстракция, очистка полученных экстрактов, концентрирование и перерастворение. В некоторых случаях перед последующим определением

требуется дериватизация. Разнообразие методов пробоподготовки обуславливается природой анализируемых веществ, свойствами растительного материала и требованиями метода непосредственно самого анализа.

1.3.1 Существующие методы пробоподготовки при определении остаточных количеств инсектицидов

Первоначальным этапом любой пробоподготовки с целью определения остаточных количеств инсектицидов в растительных образцах является экстракция действующих веществ.

Экстракция или извлечение целевых действующих веществ из проб и продуктов переработки урожая, в частности масла, является одним из самых важных, базовых этапов проведения исследований. Именно этот этап обеспечивает на высоком уровне выполнение одного из основных критериев оценки методики – это степень извлечения. Точно подобранный метод экстракции эффективно влияет на последующую очистку и обеспечивает качество итоговых результатов анализа.

Извлечение действующих веществ инсектицидов может выполняться несколькими способами. Например, жидкостная экстракция с использованием различных органических растворителей (ацетонитрил, ацетон, этилацетат и метанол). При выборе экстрагента учитывается вероятность совместного извлечения компонентов из пробы и возможность последующей очистки экстракта. В процессе использования метода анализируемое вещество селективно экстрагируется в одну из фаз благодаря разнице в растворимости. Иногда, для улучшения процесса разделения требуется дополнительное внесение ион-парных реагентов или высаливателей. Из основных недостатков данного метода исследователями (Лаврухина и др., 2022) отмечается необходимость больших количеств растворителей и сложность автоматизации процесса.

В анализе остаточных количеств инсектицидов также применяется твердофазная экстракция (ТФЭ). Процедура проведения заключается в пропускании исследуемого раствора через слой сорбента с последующей десорбцией анализируемых веществ возможно минимальным объемом

органического растворителя. Сорбенты, используемые для ТФЭ пестицидов, относятся в основном к неполярным материалам и разделяются на три группы в составе: графитированные сажи, полимерные соединения и модифицированные силикагели (Долженко и др., 2005). В последнее время исследователи начинают все чаще применять современные варианты ТФЭ, такие как твердофазная микроэкстракция, динамическая и дисперсионная твердофазные экстракции и матричное твердофазное диспергирование (Твердофазная экстракция ..., 2019, A critical review ..., 2015; Applications of ..., 2016).

Благодаря стремительному развитию аналитического приборостроения появилась возможность в условиях современной лаборатории извлекать действующие вещества пестицидов из твердых растительных проб органическими растворителями с помощью ультразвука, микроволнового излучения и экстракции под давлением (Современная методология ..., 2023).

Однозначно при определении остаточных количеств инсектицидов в растительных объектах, особенно в маслосодержащем урожае и самом масле, не обойтись без довольно сложной очистки образцов после экстрагирования. Это обусловлено необходимостью устранения или хотя бы снижения загрязнения пробы различными компонентами исследуемого образца.

В процессе очистки экстрактов, как при анализе гидрофильных, так и гидрофобных инсектицидов, эффективны HLB-картриджи для ТФЭ на основе сополимера дивинил-N-винилпирролидона (Watanabe, 2021). ТФЭ картриджи с такими адсорбентами, как графитированная сажа с PSA (Primary Secondary Amine - сорбент для твердофазной экстракции на основе силикагеля с привитыми первичными и вторичными аминными группами) или модифицированный аминопропилем силикагель, могут одновременно очищать экстракт от пигментов, углеводов и стероидов.

Дисперсионная ТФЭ (ДТФЭ) по сравнению с обычной ТФЭ позволяет задействовать на этапе очистки меньшие количества растворителей, при этом немного снижая эффективность классического метода. ДТФЭ успешно сочетает в себе процесс гомогенизации растительной пробы, экстракции, фракционирования

и очистки. В качестве пробоподготовки ДТФЭ применяется совместно с покрытыми полистиролом магнитными наночастицами и полимерами с двойным молекулярным отпечатком.

Дисперсионная жидкостно-жидкостная микроэкстракция (ДЖЖМЭ) – один из современных методов пробоподготовки при анализе в том числе и остаточных количеств инсектицидов, характеризуется большей стабильностью и имеет ряд преимуществ перед другими методами очистки и концентрирования целевых веществ из растительных образцов. ДЖЖМЭ основывается на применении тройной системы растворителей: водного раствора, содержащего анализируемое действующее вещество, не смешивающийся с водой экстрагент и дисперсионный растворитель, смешивающийся и с водой, и с экстрагентом (Амелин и др, 2013, *Miniaturized ...*, 2021). В процессе выполнения метода ДЖЖМЭ с целью образования микроэмульсии экстракционные и диспергирующие растворители одновременно и быстрым потоком вводятся в жидкую пробу с помощью шприца. Поверхность массообмена при этом, за счет высокой степени диспергирования, увеличивается в 10^4 – 10^5 раз (*Дисперсионная ...*, 2020). В последнее время развитие метода ДЖЖМЭ направлено на её автоматизацию в сочетании с поиском более экологичных растворителей, таких как ионные жидкости и глубокие эвтектические растворители.

Достичь максимальной универсальности пробоподготовки при анализе различных классов пестицидов в широком разнообразии растительных объектов сложно. Помимо этого, все чаще возникает необходимость одновременно выполнять определение нескольких действующих веществ в одном образце (*Мониторинг пестицидов ...*, 2022; Ивченкова и др., 2022).

Проанализировав ситуацию в этой области, мы пришли к выводу, что к преодолению перечисленных проблем максимально близко можно подойти через использование метода пробоподготовки QuEChERS. Аббревиатура расшифровывается как быстрый, простой, дешевый, эффективный, надежный и безопасный подход. Он впервые был представлен для извлечения широкого спектра (полярных, среднеполярных, неполярных) пестицидов из фруктов и

овощей (Anastasiades, 2003). Схематически действия в рамках данного метода воспроизведены на рисунке 1 (Lehotay et al., 2005).

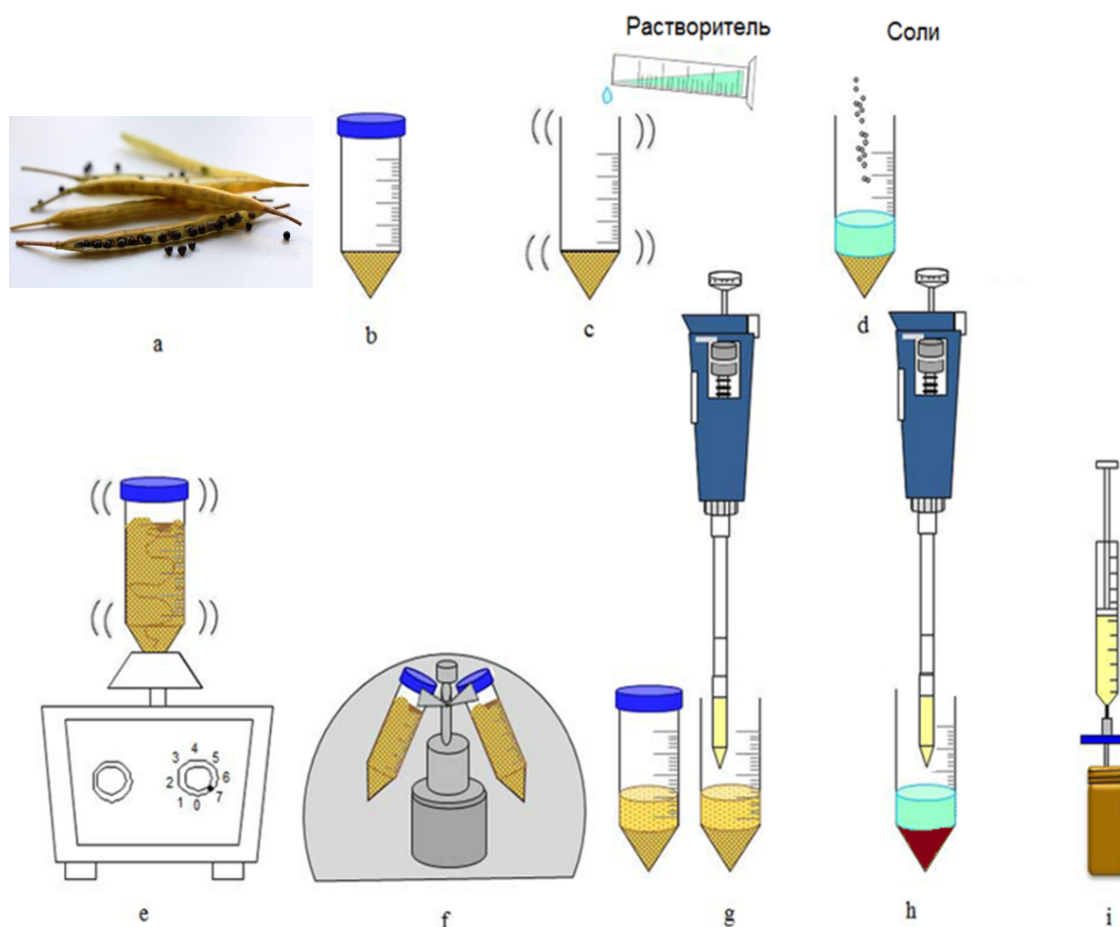


Рисунок 1 – Схема пробоподготовки QuEChERS

Основу подхода в первоначальном варианте составляло извлечение действующих веществ ацетонитрилом с последующей очисткой с помощью твердофазной экстракции (ТФЭ) графитированной сажей (GCB) и первично-вторичным амином (PSA) (Lehotay et al., 2005).

В дальнейшем технология подвергалась модифицированию другими исследователями. Добавление сорбента C18 вместе с PSA во многих случаях улучшает очистку экстрактов, а графитированная сажа позволяет уменьшить содержание хлорофилла и каротиноидов при анализе объектов, богатых данными веществами. Использование же буфера предотвращает разложение некоторых пестицидов в пробе. За последнее время метод был существенно доработан. Так, предложены стадия щелочного гидролиза для пестицидов с кислотными

свойствами, замораживание для образцов с высоким содержанием жира и новые, более эффективные сорбенты (Recent developments ..., 2019).

С помощью QuEChERS на сегодняшний день есть возможность извлекать остатки пестицидов из сухого растительного материала (Koesukwiwat et al., 2008), фруктового сока и меда (Romero-González et al., 2008; Simple and rapid ..., 2007), молока и плазмы (Pesticides residues ..., 2010; Multi-residue ..., 2008; Salting-out assisted ..., 2009), а также почвы и сточных вод (Evaluation of ..., 2010).

Если говорить о методике QuEChERS в исходном варианте, то ее можно вполне четко разделить на три подтипа: оригинальный (без буфера), AOAC 2007.01 и EN 15662. Все эти разновидности достаточно универсальны и коммерчески реализуются в виде специальных наборов одноразовых пробирок с сорбентами для экстракции.

В целом же подход QuEChERS лишён таких недостатков традиционных методов пробоподготовки, как длительность процедуры извлечения и использование опасных растворителей. Он радикально упрощает анализ остаточных количеств пестицидов в любых пищевых продуктах растительного происхождения (QuEChERS – Fundamentals ..., 2019). При этом для пестицидов, имеющих высокую летучесть, использование метода пробоподготовки QuEChERS как правило сочетается с газожидкостными хроматографическими системами с масс-детекторами (ГХ-МС) в качестве инструмента анализа.

Помимо QuEChERS существуют и другие достаточно специфические методы определения пестицидов, которые имеют большие перспективы, но пока широко не используются. Прежде всего это применение прямой лазерной фотоиндуцированной флуоресценции (Ultrasound-assisted ..., 2017) или кинетического спектрофотометрического метода (Ruan et al., 2015). На данный момент имеется довольно мало исследований, в которых QuEChERS используется с другими методами предварительного концентрирования, например его сочетание с ДЖЖМЭ (Andraščíková et al., 2013).

Методы анализа остатков пестицидов обычно разрабатываются для обнаружения очень малых (следовых) количеств действующих веществ. Чаще

всего такие методы требуют применения газожидкостных (ГХ) или высокоэффективных жидкостных хроматографов (ВЭЖХ). Газовый хроматограф является наиболее широко используемым прибором при совместном анализе остаточных количеств пестицидов из-за его высокой разрешающей способности и доступности селективных детекторов. Детектор электронного захвата (ДЭЗ или ЭЗД) очень избирателен к электроотрицательным соединениям, таким как хлорорганические, фосфорорганические и азоторганические инсектициды.

На данный момент существует ограниченное количество работ, описывающих применение метода QuEChERS в качестве пробоподготовки для анализа остаточных количеств пестицидов на газовом хроматографе в сочетании с детектором электронного захвата (Tankiewicz, 2019). Это несмотря на то, что ЭЗД широко доступны к применению в научно-исследовательских лабораториях. В связи с этим исследования совместного применения пробоподготовки QuEChERS и анализа на ГХ-ЭЗД являются перспективным направлением в области анализа остаточных количеств пестицидов.

1.3.3 Методы контроля хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в урожае масличных культур

При анализе растительных проб на содержание остаточных количеств действующих веществ комбинированных инсектицидов для каждого компонента по существующим методикам необходимо проводить отдельную пробоподготовку с последующим качественным и количественным анализом, что существенно увеличивает объем и продолжительность работ. В последнее время особую актуальность приобретает разработка оригинальных методик, позволяющих совместно определять остаточные количества действующих веществ, содержащихся в комбинированном пестициде (Validation of ..., 2018; Makonnen et al., 2021).

Что касается выделенных и исследуемых нами действующих веществ инсектицидного характера (хлорпирифос, бифентрин и циперметрин), официально

зарегистрированные в Российской Федерации методы определения каждого из них существуют. Исходные данные по ним отражены в материалах таблице 1.

Таблица 1 – Методики определения действующих веществ инсектицидов, применяемых в защите масличных культур

Действующее вещество	МУК для рапса	МУК для сои	МУК для подсолнечника
Хлорпирифос	4.1.2918-11	№3222-85	№3222-85
Бифентрин	4.1.2674-10	4.1.2938-11	4.1.2299-07
Циперметрин	4.1.1837-04	4.1.1837-04	4.1.1837-04

В целом они были разработаны достаточно давно, на что указывают цифровые индексы, и на сегодняшний день однозначно требуют усовершенствования. Одна из причин здесь состоит в том, что все эти методики базируются на устаревшей схеме пробоподготовки – 2-х или 3-х кратная экстракция органическим растворителем (водный ацетон), упаривание экстракта до водного остатка, а затем перераспределение в системе несмешивающихся растворителей (ЖЖЭ). Так, в методических указаниях по определению остатков циперметрина в урожае масличных культур, разработанных во ВНИИМФ В. С. Горбатовым (2004), автор исходит из того, что пробоподготовка должна составлять целых девять стадий. Это изначально подразумевает как существенные временные затраты, так и значительный расход (310 мл на одну пробу) растворителей (МУК 4.1.1837-04, 2004). В методических указаниях по определению остаточных количеств хлорпирифоса, разработанных в 2011 году в МСХА имени К. А. Тимирязева, очистка экстракта проводится с помощью колоночной хроматографии, данный подход уже практически не используется в аналитических лабораториях в связи с высоким расходом сорбентов и растворителей.

Определение этого же действующего вещества в подсолнечнике и сое рекомендуется делать по общей методике определения фосфорорганических соединений в растительных объектах, разработанной еще в 1985 году (Методы определения ...,1992). В ней, предполагается помещать пробу растительного

материала массой 25-50 г в коническую колбу и заливать 50 мл смеси ацетон-вода в соотношении 1:1 и далее экстрагировать ФОС два раза по 30 минут при постоянном встряхивании. После этого полученный раствор необходимо профильтровать через стекловату. Из водно-ацетонового раствора действующее вещество здесь экстрагируют хлороформом, предварительно насыщенным водой, три раза порциями по 50 мл. Объединенный хлороформный экстракт сушат, фильтруют и концентрируют до объема 5-7 мл. После чего очищают с помощью колоночной хроматографии, используя в качестве сорбентов активированный уголь, оксид алюминия и безводный сульфат натрия. Получившийся экстракт высушивают, а затем вновь растворяют в небольшом количестве ацетона и анализируют методом ГЖХ или тонкослойной хроматографии (ТСХ). Данная методика, хоть и обладает хорошими показателями степени извлечения хлорпирифоса, но, к сожалению, трудно воспроизводима, особенно в лабораториях, занимающихся потоковыми анализами. В среднем, при исследовании динамики деградации действующих веществ инсектицидов необходимо, включая контрольные образцы, проанализировать 10 растительных проб. Это означает, что при проведении анализов по данной методике необходимо потратить более 3 литров органических растворителей. Современные способы пробоподготовки, описанные в предыдущем разделе, позволяют снизить этот показатель в десятки раз (Muhammad et al., 2019; Development and ..., 2021; Алексеев, Черменская, 2023).

Все зарегистрированные и разрабатываемые методики по определению остаточных количеств инсектицидов в России должны позволять анализировать количества действующих веществ на уровнях или ниже максимально допустимого уровня (МДУ). Данные величины определены у нас в стране для большинства действующих веществ пестицидов и регламентируются постановлением №2 от 28 января 2021 года главного государственного санитарного врача Российской Федерации. Параметры МДУ, определенные этим документом для основных масличных культур, приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Максимально допустимые уровни содержания хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в урожае основных масличных культур

Действующее вещество	Рапс, мг/кг		Подсолнечник, мг/кг		Соя, мг/кг	
	Семена	Масло	Семена	Масло	Бобы	Масло
Хлорпирифос	0,05	0,05	0,05	0,05	0,1	0,1
Бифентрин	0,1	0,1	0,02	0,02	0,3	0,3
Циперметрин	0,1	0,1	0,2	0,2	0,05	0,1

Из содержания таблицы следует, что хлорпирифос, являясь фосфорорганическим соединением, имеет более низкие показатели МДУ, то есть он токсичнее для теплокровных, чем бифентрин и циперметрин. В тоже время необходимо указать, что в большинстве своем МДУ по данным действующим веществам для урожая указанных культур и получаемого из него масла абсолютно соизмеримы.

1.3.4 Основы определения остаточных количеств пестицидов в масличных культурах

Анализ остаточных количеств пестицидов в масличных культурах является непростой задачей из-за большого содержания триглицеридов в их урожае. Подготовка проб из самих семян и получаемого из них масла требует полного удаления из исследуемого материала высокомолекулярных жиров для максимально возможного извлечения действующих веществ и увеличения срока службы приборов (Analysis of pesticide ..., 2018). Пробоподготовка представляет собой один из наиболее важных этапов анализа остаточных количеств инсектицидов в семенах рапса, подсолнечника и сои из-за большого количества липидов. Однако уже доказано, что последние легко экстрагируются растворителями. Видимо поэтому большинство опубликованных методов контроля остатков пестицидов в растениях и урожае масличных культур включают в себя метод QuEChERS (Abdel et al., 2018; Chlorpyrifos residue ..., 2015).

По результатам рассмотрения существующих решений данной проблемы было определено, что наилучшим методом очистки масличных матриц является твердофазная экстракция с применением PSA, GCB и сорбента с привитыми фазами C18. Однако сорбент GCB способен адсорбировать не только компоненты матрицы, но и целевые вещества, особенно имеющие плоскую кольцевую структуру молекулы. Исходя из этого было определено, что использование комбинации PSA + C18 дает оптимальные результаты как по степени извлечения действующих веществ, так и по чистоте пробы (Comprehensive ..., 2012).

Ученые постоянно стремятся облегчить и улучшить имеющиеся методы определения остаточных количеств пестицидов в урожае в том числе и масличных культур. Так, например, имеется работа российских и польских исследователей, в которой в качестве адсорбента используется графен (Madej et al., 2018). Данный материал может быть успешно применен для выделения действующих веществ инсектицидов из проб масла. Однако определение на низких уровнях концентраций, как это происходит в реальных условиях, требует использования соответствующих высокочувствительных аналитических методов, а также более подходящей (например, магнитно-модифицированный) формы графена, которая способна предотвращать агрегацию наноматериала, увеличивать его дисперсию в растворителях и улучшать адсорбционные свойства. Такая модификация позволяет в последующем качественнее отделить графен от исследуемых аналитов в растворе с помощью магнита.

Установлено, что при анализе маслосодержащих растительных объектов может быть действенным и метод холодного разделения (Cold induced phase separation – CIPS). Данный подход основан на разделении смеси воды и неполярных органических растворителей с помощью охлаждения за счет разницы в температурах их замерзания. CIPS, как представлено в имеющихся исследованиях (Shao et al., 2017; Jun et al., 2023), позволяет не использовать для разделения дополнительные реактивы и экстракционные соли, что делает метод более экономичным и экологичным. Однако все это в свою очередь приводит к снижению процента извлечения действующих веществ из пробы и увеличению

времени пробоподготовки. Помимо этого, в недавних работах G. Shao с соавторами (2017) и В. I. Jun с соавторами (2023) представлено применения CIPS совместно с упомянутым ранее подходом QuEChERS.

1.3.5 Факторы, влияющие на определение остаточных количеств и деградацию действующих веществ инсектицидов

Сравнение динамик деградации действующих веществ инсектицидов в условиях различных почвенно-климатических зон возделывания культур обычно затрудняется невозможностью объективной оценки в связи с целым рядом факторов, от которых зависит сохранение или разложение остаточных количеств препаратов. Однако в каждой из них процесс деградации в определенной степени связан с физическими (препаративная форма, концентрация, смачиваемость, размер и форма частиц, давление насыщенных паров действующих веществ, растворимость в липоидах эпидермиса) свойствами препаратов, способом (тип применяемой техники, объем и создаваемое давление на выходе, строение сопел распылителей, размер капель) их нанесения, особенностями (количество вегетативной массы, смачиваемость, шероховатость, конфигурация листа, восковый покров) обрабатываемых растений и метеорологическими (температура и влажность воздуха, осадки, роса, ветер) элементами (Зинченко, 2012). По мнению W. Farha с соавторами (2016) осадки, влажность воздуха и роса играют решающую роль в деградации инсектицидов на поверхности растений. На скорость смывания остатков действующих веществ существенно влияют множество факторов, включая интенсивность и количество случившихся осадков, прошедший период между обработкой препаратом и их выпадением, а также химическим строением инсектицида и степенью растворимости его в воде (An overview ..., 2016).

Для более точной сравнительной оценки динамик деградации остаточных количеств пестицидов рекомендуется рассчитывать коэффициенты полураспада, определяющие скорость снижения концентраций действующих веществ вне зависимости от начального значения (Динамика разложения ..., 2019).

Анализ факторов, влияющих на скорость и пути деградации пестицидов для широкого круга сельскохозяйственных культур на основании работ Семеновой Н. Н. (2007) показывает, что при экстракутикулярном расположении пестицидов их разложение осуществляется в основном под влиянием абиотических (фотохимическое и гидролитическое разрушение) факторов, в то время как субкутикулярные отложения трансформируются прежде всего биологическим путем под воздействием ферментных систем растения.

Невозможно четко разграничить факторы, воздействующие на экстра- и субкутикулярные отложения, так как для каждого отдельного случая существует собственная система процессов, определяющих их размещение и разложение. Наряду с этим необходимо отметить, что в зависимости от наличия на листьях растения воска будет преобладать либо химический, либо метаболический путь разрушения пестицидов. Пролонгированность действия пиретроидных инсектицидов от части определяется их медленным разложением в восковом слое кутикулы (Семенова, 2007). В целом пиретроиды, в частности бифентрин и циперметрин, являются контактными инсектицидами, на деградацию которых в первую очередь влияют абиотические факторы, в то время как хлорпирифос обладает определенным системным действием и может разлагаться благодаря внутренним процессам в растениях.

Основываясь на представленной в пункте 1.3 информации, можно сформулировать наиболее важные требования к современным методам обнаружения остаточных количеств пестицидов, а именно:

- сокращение времени, затрачиваемого на пробоподготовку и сам анализ;
- максимально возможная экономия в использовании набора реагентов;
- безопасность для окружающей среды и технического исполнителя работ;
- воспроизводимость любого из используемых приемов и методов;
- высокая степень извлечения целевого вещества;
- высокая чувствительность метода.

1.4 Влияние пиретроидов и ФОС на естественных опылителей

На пчеловодство общепризнано возлагаются три основных функции: медово-товарная, опылительная и разведенческая. В центральной России основной упор делается на производство меда, в зонах теплого климата и интенсивного земледелия на юге страны пчеловодству в основном отводится разведенческая и опылительная функции. Подобное разделение является весьма условным и в настоящее время все чаще практикуется комплексное использование пчелиных семей. Все же в стране, с учетом разнообразия климатических зон, все равно в определённых регионах преобладает получение товарной продукции, в то время как в других преимущественно используются пчелиные семьи для опыления сельскохозяйственных энтомофильных культур (Колмацкий В. И., 2020).

В целом, для получения высоких урожаев, более 70% сельскохозяйственных культур в нашей стране нуждаются в опылении. Среди энтомофильных культур первое место по посевным площадям занимает подсолнечник, на втором и третьем месте – яровой и озимый рапс, соответственно. Для полноценного опыления энтомофильных культур (подсолнечник, рапс, гречиха, горчица, бахчевые и др.) в стране необходимо более 7 млн пчелиных семей (Комлацкий Г. В., 2020).

Массовое применение пестицидов для защиты растений от вредителей и болезней неизбежно ставит вопрос о безопасности этих соединений для организмов, не являющихся целями их воздействия. В последние два десятилетия в большинстве стран наблюдается массовая гибель пчелиных семей, основной причиной которых считают применение инсектицидов (Соловьева, 2012; A two-year monitoring ..., 2019).

Осознание того, что препараты, обычно применяемые для защиты сельскохозяйственных культур, могут представлять реальную опасность для насекомых-опылителей, мотивирует ученых исследовать ряд вопросов, связанных с влиянием пестицидов на жизнедеятельность пчел. Учитывая, что следовые количества действующих веществ пестицидов могут представлять потенциальную опасность для здоровья этих насекомых, необходимы точные данные об

остаточных количествах средств защиты растений в имаго медоносных пчел и продуктах пчеловодства. С каждым годом появляется все больше научных публикаций, подчеркивающих экономическую ценность пчел, как опылителей сельскохозяйственных культур (Bee pollination ..., 2014; Global growth ..., 2011), и анализирующих влияние многочисленных инсектицидов на изменение физиологических параметров пчел и случайные факты отравления (Илларионов, 2024; Pesticide residues ..., 2014; Lozowicka, 2013), а также представляющих методики, позволяющие идентифицировать остаточные количества действующих веществ пестицидов в таких сложных матрицах (Kaczyński et al., 2017; Multi-residue ..., 2016). По данным ФАО из 100 видов растений, составляющих 90% продуктов питания во всем мире, 71 вид в той или иной степени нуждается в опылении пчелами (Hrynko et al., 2021).

Несмотря на значительный прогресс, наблюдаемый в последние годы в области аналитической химии, идентификация остатков пестицидов в организме имаго медоносной пчелы по-прежнему характеризуется целым рядом сложностей. Во многом это связано со спецификой методики пробоподготовки и очистки проб от высокого содержания сложных веществ (пчелиный воск, липиды, жиры, белки), препятствующих проведению анализа (Bargańska et al., 2014). Основной проблемой, влияющей на выбор правильной инструментальной методики, является низкий уровень концентрации идентифицируемых соединений, их разнообразный химический состав, а также физико-химические свойства. Несомненной проблемой является тот факт, что утвержденные методические указания или ГОСТы по проведению соответствующей пробоподготовки биоматериала из пчел и его анализа в Российской Федерации практически отсутствуют.

Наиболее безопасными для пчел считаются фунгицидные и гербицидные препараты, поэтому они относятся, в основном, к третьему классу опасности. Но при смешивании их с инсектицидами, вследствие синергизма, наблюдается существенное усиление негативного действия на этих насекомых. Помимо усиления токсичности инсектицидов для пчел гербициды, в частности

глифосатсодержащие, уничтожают естественное биоразнообразие растений, в том числе снижают численность дикорастущих медоносов (Диденко, 2020).

К наиболее опасным для пчел веществам инсектицидного действия первого и второго класса относятся препараты из группы неоникотиноидов (тиаметоксам, имидаклоприд, клотианидин), пиретроидов (лямбда-цигалотрин, альфа-циперметрин) и ФОС (диазинон, малатион и хлорпирифос) (Диденко, 2020).

Прямое токсическое действие вызывает мгновенную гибель пчел при их контакте с сохраняющимися на растениях остатками пестицидов. Непрямой токсический эффект связан с сублетальным действием пестицидов и проявляется он в нарушениях пищевого поведения, развития, размножения, ориентации в пространстве, снижении иммунитета, сокращении продолжительности жизни и выполнении социальных взаимодействий насекомых. При использовании пестицидов в виде эмульсий или порошков их мельчайшие частички могут разноситься ветром на сотни метров от места обработки и, попадая на пчел, вызывать их гибель. Системные инсектициды, используемые для предпосевной обработки семян, способны оказывать сублетальное действие на пчел. Остаточное содержание инсектицидов с таким механизмом обнаруживается абсолютно во всех частях растений, даже в цветках, пыльце и нектаре (Калинникова и др., 2020).

Опасность для пчел, создаваемая пестицидом, зависит не только от его состава, но и от нормы применения препарата. Например, пиретроидный инсектицид циперметрин имеет местную ЛД₅₀ 0,02 мг на особь и рекомендуемую норму применения 25 г/га. Триазофос обладает похожей ЛД₅₀ – 0,05 мкг на особь, но норма применения данного препарата уже 400 г/га. То есть здесь употребляется большее количество доз ЛД₅₀ на единицу площади по сравнению с циперметрином, что существенно увеличивает риски для пчел в поле. Исходя из этих данных, классификация токсичности пестицидов для пчел была составлена с учетом коэффициента опасности. Соотношение между нормой применения и токсичностью дает представление о том, насколько вероятное воздействие на пчел близко к токсикологически значимому уровню. При расчете коэффициента опасности (норма применения / ЛД₅₀) количество действующего вещества на

гектар представляет собой наивысшую рекомендованную норму в граммах, а ЛД₅₀ измеряется в микрограммах на одну особь. Если пестицид имеет коэффициент опасности меньше 50, он не считается опасным, если соотношение превышает 2500, то пестицид классифицируется как опасный. Пиретроиды, хотя и высокотоксичны для пчел в лабораторных условиях, обычно имеют более низкий коэффициент опасности по сравнению с фосфорорганическими и карбаматными инсектицидами, поскольку они имеют меньшие нормы применения (Ecotoxicology of synthetic ..., 2012).

1.4.1 Меры предотвращения отравления пчёл инсектицидами

В России 29 июня 2021 г. вступил в действие Федеральный закон от 30 декабря 2020 г. № 490-ФЗ «О пчеловодстве в Российской Федерации». Статья 16 этого закона посвящена предотвращению отравления пчел пестицидами и ядохимикатами. Эта статья предусматривает обязательное информирование населения населенных пунктов, расположенных на расстоянии до 7 км от границ земельных участков, запланированных к обработке пестицидами и агрохимикатами, не позднее чем за три дня до проведения обработки. При этом обязательно указываются границы запланированных к обработке пестицидами и агрохимикатами земельных участков; сроки и способ проведения работ; наименование запланированных к применению пестицидов и агрохимикатов, классы их опасности, сведения об опасных свойствах; рекомендуемые сроки изоляции пчел в ульях.

Несмотря на это, при несоблюдении норм и распоряжений все равно ежегодно случаются гибели пчелосемей в связи с неправильными обработками сельскохозяйственных угодий пестицидами или несоблюдением пасечниками прописанных в законе норм. В 2019 году в республике Башкирия – одном из лидеров в Российской Федерации по количеству пчелиных семей и производству товарного меда, случился массовый падеж пчел. В общей сложности погибло более 2,5 тысяч пчелосемей, что соответствует 1,5% от наличия их в регионе. В сельском хозяйстве республики, для защиты культур, в том числе и масличных, от

вредителей, наиболее часто используются пестициды, представляющие химические классы ФОС, пиретроиды и неоникотиноиды, а также комбинации действующих веществ из разных групп в таком сочетании как циперметрин с хлорпирифосом или лямбда-цигалотрин с имидаклопридом. При этом серьезный урон пчеловодству наносят обработки посевов в фазе цветения растений и при наличии в них цветущей сорной растительности (Хаматшин, Садыкова, 2020).

При применении пестицидов, относящихся к первому классу опасности для пчел, а это более 55% среди всех инсектицидов и акарицидов, используемых в России, необходимо строгое соблюдение всех биологических и экологических регламентов. Во-первых, обработку растений допускается проводить только в вечернее время после захода солнца, при скорости ветра от 1 до 2 м/с. Во-вторых, обрабатываемая территория поля должна находиться на расстоянии не ближе 4-5 км от мест размещения пасек. В-третьих, продолжительность изоляции вылета пчел из улья, при всех принимаемых мерах сохранения их жизни, должна составлять не менее 4-6 суток (Соловьева, 2012).

1.4.2 Определение остаточных количеств инсектицидов в имаго пчёл

Вероятность интоксикации имаго медоносной пчелы химическими средствами защиты растений, в период их применения, при попадании химического препарата на тело насекомых не ограничивается только пчелами-сборщицами в случае контакта их с обработанными токсикантами растениями. Если концентрация инсектицидов в нектаре велика, то пчелы, собирающие такой продукт, гибнут как в поле, так и в улье. Тесная взаимозависимость особей в пчелиной семье делает возможным процесс интоксикации и внутриульевых пчел в результате заноса пестицида вместе с кормовыми продуктами в гнездо медоносных пчел. Корм передается от пчелы к пчеле и поступает вместе с токсикантом к пчелам-кормилицам, а от них к матке, трутням, личинкам и часть корма откладывается в запас. Отравление пчёл пестицидами ослабляет пчелиные семьи, снижает их продуктивность и даже приводит к массовой гибели (Будникова и др., 2023).

Считается, что основную опасность для пчел составляют инсектициды из химического класса неоникотиноидов. Благодаря их медленной деградации, долгому сохранению в почве и на растительных остатках, они с большей вероятностью обнаруживаются в меде и подморе пчел. Однако исследование показывает, что несмотря на невысокие нормы расхода при обработках, синтетические пиретроиды, в частности Фьюри, ВЭ (100 г/л зетта-циперметрина) могут быть причиной массовой гибели медоносных пчел, а их остатки обнаруживаются в подморе пчел и даже в меде (Галяутдинова и др., 2018). За рубежом для анализа остаточных количеств инсектицидов в пчелах в основном используют ВЭЖХ-МС и ГХ-МС приборы, в качестве пробоподготовки применяется модифицированный метод QuEChERS. Отличительной чертой данного подхода является вымораживание проб на стадии экстракции с целью удаления восков. Как уже было описано, заморозка экстракта существенно облегчает дальнейшую очистку на насыпных сорбентах, таких как PSA и C18 (Bioindicator detection ..., 2021). Для более эффективной и быстрой очистки некоторыми исследователями было предложено замораживать пробирки с экстрактами в сухом льду в течение 2 минут (Fast determination of ..., 2016).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследования

В аналитических исследованиях использовались смешанные образцы зеленой массы и урожая ярового рапса сорта Ратник, сои (сорта Славия, Алтом, Марина) и подсолнечника (Саратовский 20, Кречет и Енисей), отобранные в различных регионах Российской Федерации.

Действующее вещество с инсектицидной активностью – хлорпирифос. По ИЮПАК (IUPAC) - диэтоксисульфанилиден-(3,5,6-трихлорпиридин-2-ил) окси- λ^5 -фосфан – относится к химическому классу фосфорорганических соединений, характеризуется определенными системными свойствами, является ингибитором ацетилхолинэстеразы.

Действующее вещество инсектицидного свойства – бифентрин. По ИЮПАК (IUPAC) - 2-метил-3-илметил (Z)-(1RS, 3RS)-3-(2-хлор-3,3,3-трифторпроп-1-енил)-2,2-диметилциклопропанкарбоксилат – относится к химическому классу пиретроиды, по механизму действия на вредные объекты является модулятором натриевых каналов. Характеризуется контактно-кишечным действием.

Циперметрин – действующее вещество инсектицидов, относящееся к химическому классу пиретроиды. По ИЮПАК (IUPAC) - [циано-(3-феноксифенил)метил]3-(2,2-дихлорэтил)-2,2-диметилциклопропан-1-карбоксилат. Воздействие на насекомых однозначно проявляется в контактно-кишечном аспекте с высокой начальной токсической активностью, как и бифентрин, является модулятором натриевых каналов. Отличительной особенностью циперметрина является смесевая природа с точки зрения наличия изомеров.

Основанием выбора для исследований указанных действующих веществ послужили результаты анализа ассортимента инсектицидов, разрешенных к применению или находящихся на стадии регистрации в направлении защиты масличных культур. В итоге в перечень изучаемых были включены однокомпонентный Фаскорд, КЭ (100 г/л альфа-циперметрина) и два комбинированных (Пирелли, КЭ (400 г/л хлорпирифоса + 20 г/л бифентрина) и

Фосорган Дуо, КЭ (500 г/л хлорпирифоса + 25 г/л бифентрина)), различающихся количественными значениями д.в., препарата.

Процесс подготовки проб и анализ остаточных количеств действующих веществ производился на оригинальной методике в сочетании с газовым хроматографом «Хроматэк Кристалл 5000» с электронно-захватным детектором и газовым хроматографом «SCION 465-GC» с детектором аналогичного механизма действия. Колонка кварцевая капиллярная 30 м x 0,32 мм с неподвижной фазой RTX-5 (0,25 мкм)

2.2 Методы исследования

Для достижения цели диссертационного исследования были применены общепринятые методы проведения полевых исследований: планирование и закладка экспериментов проводилась в соответствии с положениями «Методики полевого опыта» (Доспехов, 1985) и рекомендациями «Методических указаний по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и родентицидов в сельском хозяйстве» (Санкт-Петербург, 2009) и «Методических указаний по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, феромонов, моллюскоцидов и родентицидов в растениеводстве» (Москва, 2022). Исходя из чего основные полевые опыты по получению растительного материала после обработок инсектицидами проводились на посевах рапса ярового с использованием делянок площадью 10 м² (5 x 2) в четырехкратной повторности. Отбор проб осуществлялся в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов" (№ 2051-79 от 21.08.79). При этом отобранные растения или пробы из урожая культуры объединялись в смешанный образец, соответственно состоящий из выборок на 4 площадках по 0,25 м² отдельно с каждой делянки. После обмолота снопов и доработки, из урожая рапса отбирались навески по 50 г семян для получения масла, которое в последующем подвергалось анализу на содержание остаточных количеств д.в. примененного инсектицида.

Проведенный эксперимент по получению растительного материала для контроля остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина, одна из повторностей которого представлена на рисунке 2, включал последовательно по делянкам однократную обработку препаратом Фосорган Дуо, КЭ в уже обоснованной на момент начала исследований норме применения 0,6 л/га, и далее также с однократной обработкой, но в двойной (1,2 л/га) норме, с двукратным (0,6 л/га x 2) опрыскиванием и контрольным (без обработки) вариантом.

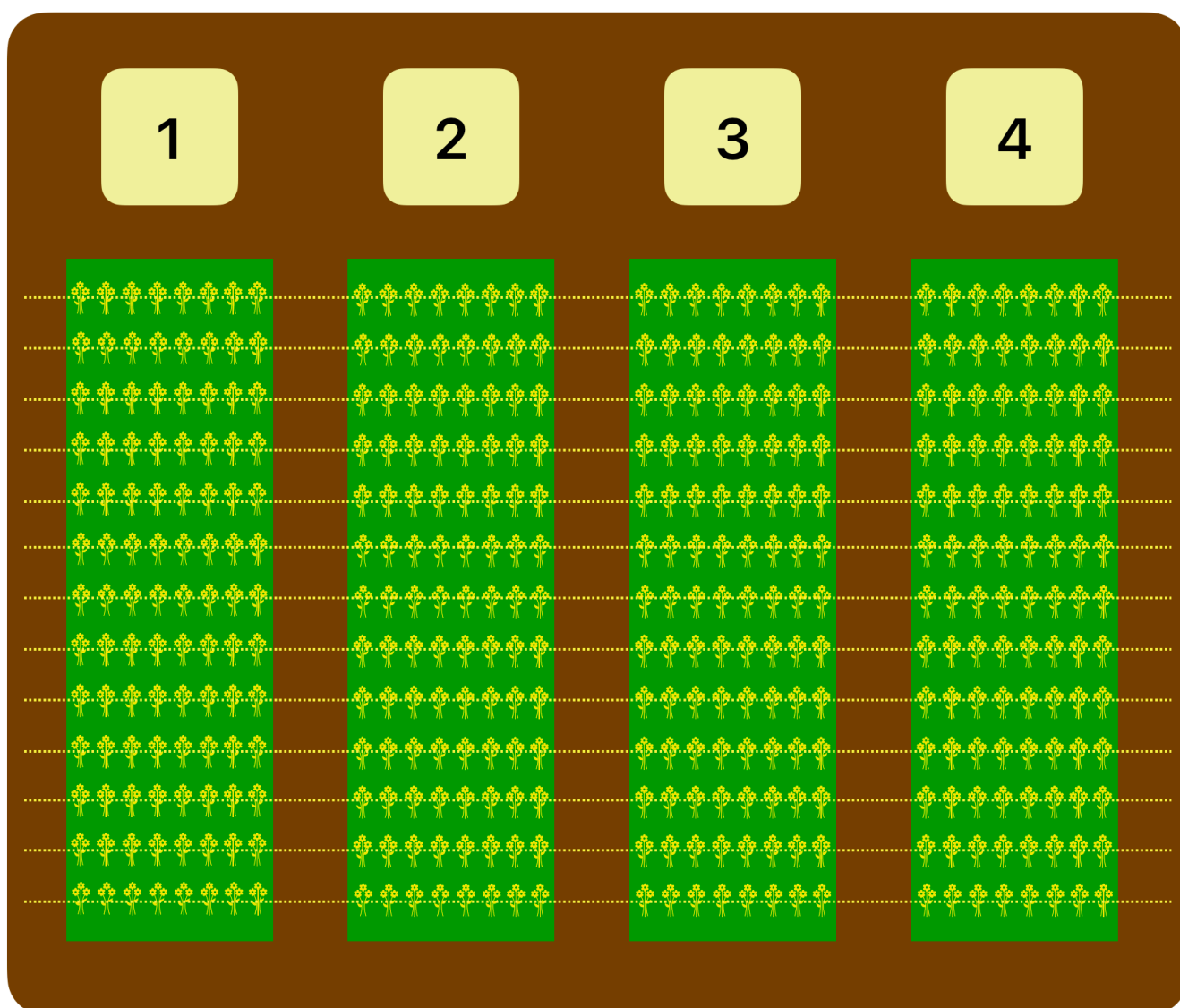


Рисунок 2 – Схема размещения делянок в составе первой повторности

При этом делянки располагались поперек посева, параметры которого соответствовали требованиям технологии возделывания культуры, применяемой на территории северо-западного региона (ширина междурядий - 15 см., норма

высева семян – около 8 кг/га). По другим (со 2-й по 4-ю) повторностям опыта варианты располагались с последовательным смещением в каждой на единицу.

Отбор проб проходил спустя два часа после обработки, на 3, 7, 10, 14, 21 и 28 сутки.

Контроль содержания хлорпирифоса, бифентрина, циперметрина основан на экстракционном извлечении определяемого компонента из проб органическим растворителем и очистке экстракта на сорбенте с последующим его анализом методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ) с использованием электронно-захватного детектора.

На этапе пробоподготовки в качестве базовых методов экстракции и очистки использовали модифицированный подход QuEChERS EN 15662:2018

Идентификация действующих веществ инсектицидов проводилась по времени удерживания, количественное определение - методом абсолютной калибровки.

Избирательность метода обеспечивается сочетанием условий подготовки проб и хроматографирования.

Статистическая обработка данных проводилась согласно национальному стандарту РФ ГОСТ Р 50779.22-2005 (ИСО 2602:1980) "Статистические методы. Статистическое представление данных. Точечная оценка и доверительный интервал для среднего" с использованием программного пакета Microsoft EXCEL.

Коэффициенты полураспада, 90% распада и критерий Пирсона рассчитывались с помощью программы R 3.1.1. с установленным расширением PestDF.

ГЛАВА 3. ФИТОСАНИТАРНЫЕ И МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СОВМЕСТНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ КОМБИНИРОВАННЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ

3.1 Биологическая эффективность комбинированного инсектицида при применении на посевах рапса ярового

В современных системах защиты полевых в том числе и масличных культур от вредных организмов главным элементом по-прежнему выступают химические средства, так как именно они способны обеспечивать биологическую эффективность и сдерживание их распространения и развития в борьбе с целевыми объектами на экономически приемлемых уровнях. В сочетании и наряду с этим необходимо минимизировать неблагоприятное воздействие на компоненты окружающей среды. Этот факт является также одним из основных стимулов обновления ассортимента химических средств защиты растений. На данном же этапе в основе совершенствования в том числе и инсектицидов лежит использование прогрессивных комбинаций действующих веществ из разных химических классов.

Поэтому разработке метода совместного определения остаточных количеств действующих веществ предшествовал, контроль биологической эффективности перспективного по своему составу инсектицида Фосорган Дуо, КЭ (500 г/л хлорпирифоса + 25 г/л бифентрина).

Эффекты от применения данного препарата удалось проконтролировать и оценить в отношении действия на имаго крестоцветных блошек, рапсового цветоеда и семенного скрытнохоботника. Так в Ленинградской области (I почвенно-климатическая зона) при присутствии в начале вегетации рапса ярового благоприятных условий для развития и проявления вредоносности крестоцветных блошек, они заселили опытные делянки сразу после появления всходов с численностью от 40 до 52 имаго/м² при ЭПВ 20-30 имаго/м². Далее в течение недели на делянках без обработки плотность присутствия вредителя достигла 67 жуков/м². Применение инсектицида Фосорган Дуо, КЭ в норме 0,6 л/га однозначно

обеспечило сдерживание численности вредителя ниже ЭПВ причем от всходов до начала стеблевания. Показатели биологической эффективности здесь в течение 14 суток превышали уровень в 90%.

Рапсовый цветоед появился на культуре в период формирования бутонов. Опрыскивание инсектицидом было проведено при средней численности 3,5 имаго/растение. При этом в контроле плотность вредителя повысилась за время проведения опыта до 8,8 имаго/растение, достигнув уровня ЭПВ на 7 сутки после обработки. На делянках, обработанных инсектицидом Фосорган Дуо, КЭ (0,6 л/га), отмечены лишь единичные (до 0,4 на растение) экземпляры жуков. В результате биологическая эффективность мероприятий характеризовалась в задействованные в учетах (3, 7 и 14 сутки) сроки показателями близкими к 100%. Что касается нанесения рапсовым цветоедом вреда, то здесь результатом обработки была поврежденность плодоземлементов не выше 3,5% на фоне того, что в контроле на 19 сутки вредителем в среднем повреждено 13,2% таковых. Итогом стало сохранение более 73,5% цветков и соответственно стручков.

Жуки семенного скрытнохоботника появились на посевах рапса в период цветения, где они проходили дополнительное питание перед откладкой яиц в стручки. В текущем году вредитель развивался при погодных условиях, близких к средним многолетним значениям. Это как раз ситуация, когда необходима повторная обработка, и в наших опытах опрыскивание проведено уже в период роста стручков, но до начала массовой откладки яиц вредителем. Численность имаго на тот момент (13,5 экземпляров) более чем в 1,5 раза превышала общепринятый уровень ЭПВ (6-8 имаго на 10 растений). Результаты учетов, проведенных перед уборкой урожая, показали, что на не обработанных делянках личинками вредителя было в среднем заселено 14,5% стручков. Действие препарата выразилось в снижении количества поврежденных плодов более чем на 70% и превысило показатель по препарату (Нуримет Экстра, КЭ), используемого в качестве эталона в среднем на 6%. Ограничение вреда явно отразилось на массе 1000 семян, средняя величина которой на варианте с применением инсектицида

Фосорган Дуо, КЭ составила 4,18 г и была достоверно выше, чем (3,90 г) на контроле.

Эти конкретные примеры однозначно позволяют говорить об объективном выборе для разработки метода и препарата, и входящих в него действующих веществ. При этом результаты исследований эффективности и динамики деградации изучаемых д.в., позволяют утверждать, что действие препарата проявляется даже когда остаточные количества хлорпирифоса и бифентрина соответствуют уровням ниже МДУ. Поэтому применение препаратов на основе этих действующих веществ вполне приемлемо для эффективной и безопасной защиты масличных культур от вредных насекомых.

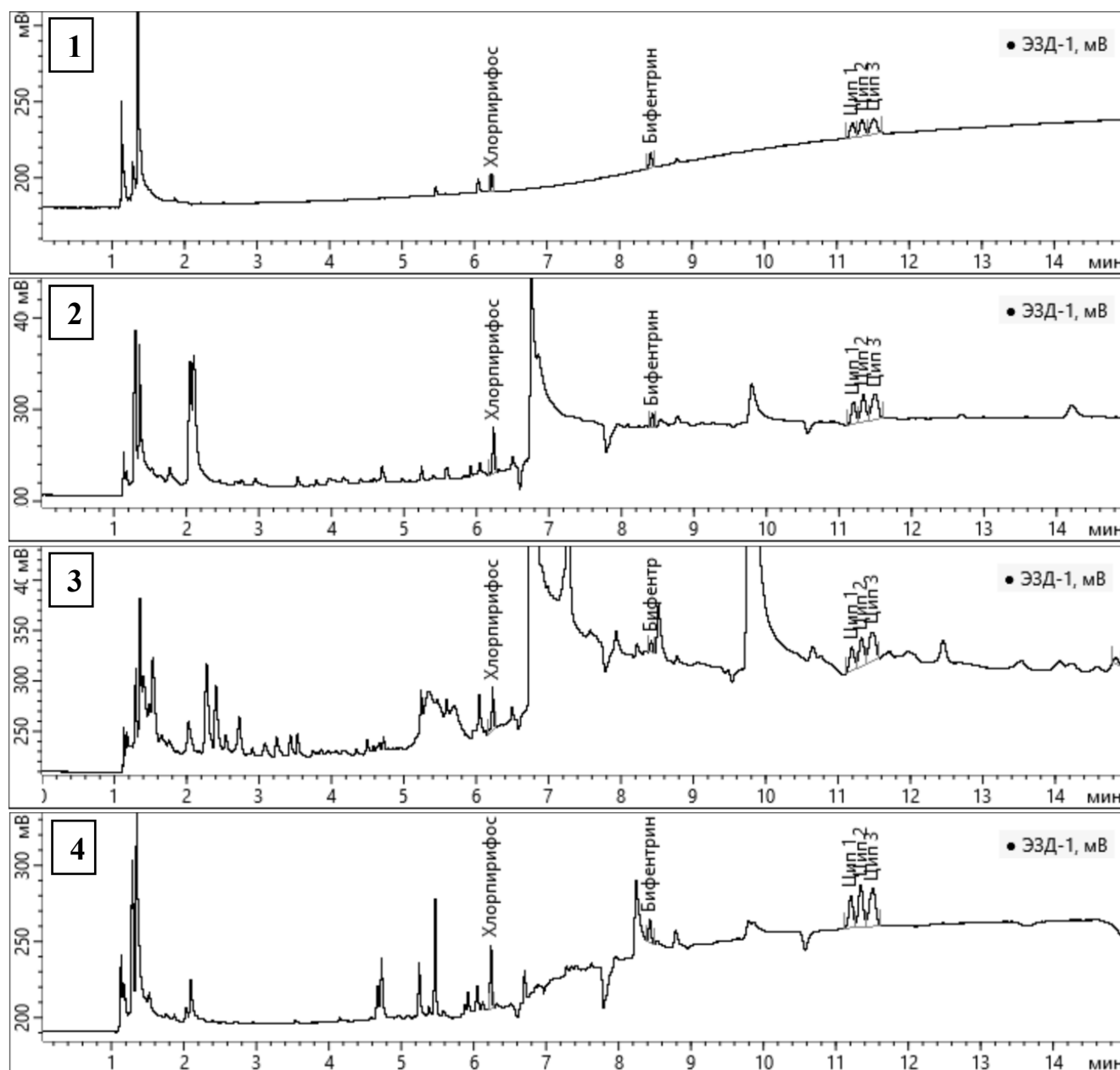
3.2 Метод совместного определения остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина

Началу разработки метода совместного определения остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина предшествовал определенный комплекс работ по оценке и проверке возможностей совместного детектирования выбранных действующих веществ как в чистом гексане, так и на различных (зеленая масса, семена, масло) объектах предполагаемого исследования.

Первичные испытания по совместному детектированию на различных матрицах осуществлялась путём внесения действующих веществ в готовые экстракты непосредственно перед вводом пробы в хроматограф.

Рассмотрение имеющихся методических указаний по определению каждого из выбранных действующих веществ позволил принять решение использовать для анализа электронно-захватный детектор. При этом в процессе подбора условий хроматографирования сформирован определенный, отвечающий поставленным задачам набор элементов и параметров, в состав которых вошли колонка кварцевая капиллярная 30 м x 0,32 мм с неподвижной неполярной фазой 5% фенил – 95% диметилполисилоксана 0,25 мкм; температура термостата колонки в режиме программирования от 150 °С (2 мин) до 270 °С (8,2 мин) со скоростью 25 град./мин.; температура испарителя 250 °С; детектора 350 °С; давление поддувочного газа

130 кПа; газ-носитель - азот; давление (в режиме постоянного) газа-носителя в колонке 104,7 кПа.; деление потока 1:5; хроматографируемый объем составляет 1 мкл. Содержание полученных хроматограмм, представленных на рисунке 3, указывает на возможность совместной идентификации хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина на различных объектах исследования. При этом установлено время детектирования, которое для хлорпирифоса составляет 6,2 и для бифентрина - 8,4 минуты.



Примечание: хроматограмма №1 – детектирование в чистом гексане; №2 – в семенах рапса ярового; №3 – в масле рапса; №4 – в зеленой массе рапса.

Рисунок 3 – Результаты контроля действующих веществ после обработки субстратов в лабораторных условиях

Циперметрин же, представляющий собой смесь изомеров, идентифицируется по трем близким сигналам в интервале времени от 11,2 до 11,5 минут анализа, а значит можно допустить его комплексную идентификацию. Различия во времени фиксирования отдельных д.в. дополнительно подтверждают возможность разработки метода совместного определения остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина. На хроматограммах в пятнадцатиминутном отрезке времени отчетливо видны «сигналы» всех исследуемых действующих веществ, без помех со стороны фона самой пробы, даже представленной таким сложным для анализа материалом как урожай масличных культур.

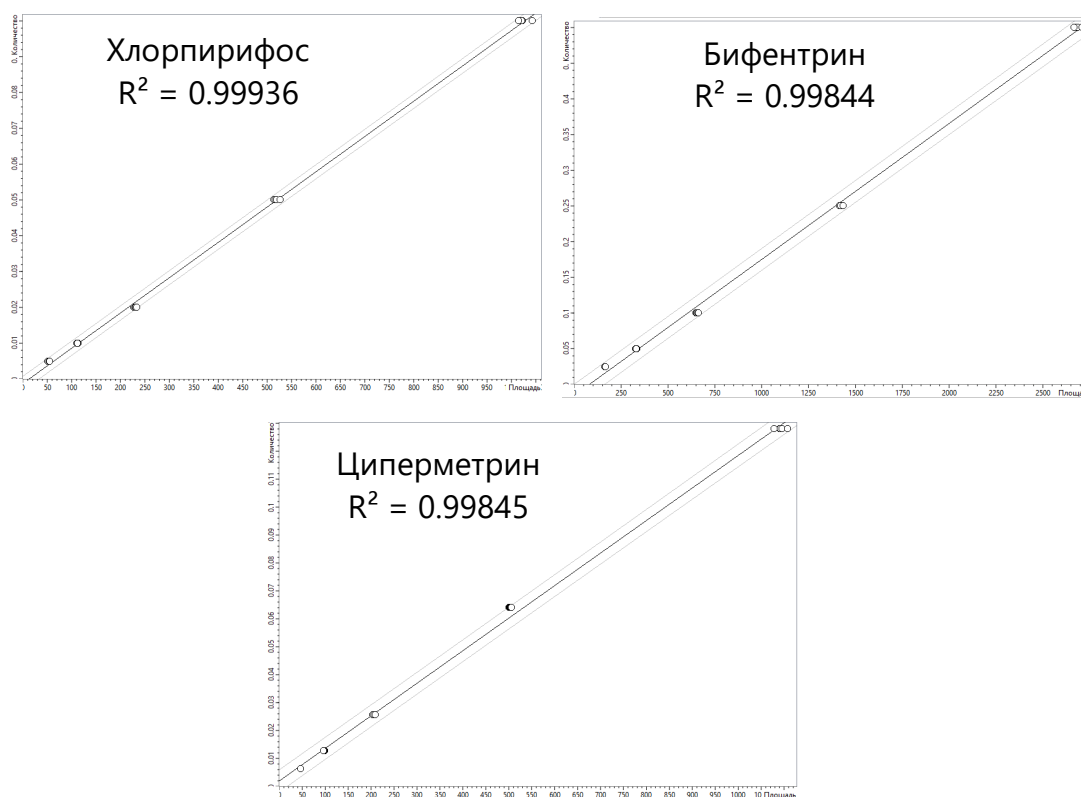
Для установления количественных характеристик действующих веществ воспользовались методом абсолютной градуировки. Диапазон концентраций для градуировки количественного расчета в разрабатываемом методе выбирался исходя из ранее зарегистрированных (таблица 1) методик. При этом каждая выбранная концентрация анализировалась в пятикратной повторности (таблица 3).

Таблица 3 – Диапазон концентраций градуировки действующих веществ

Градуировочная точка	Циперметрин, мкг/мл	Бифентрин, мкг/мл	Хлорпирифос, мкг/мл
1	0,025	0,025	0,005
2	0,05	0,05	0,01
3	0,1	0,1	0,02
4	0,25	0,25	0,05
5	0,5	0,5	0,1

Завершение данного этапа работы, как свидетельствуют приведенные в таблице показатели, уже позволило зафиксировать довольно низкие пределы определения при реализации разрабатываемой методики. С ее осуществлением появлялась вероятность определять хлорпирифос уже при концентрации 0,005 мг/кг, а циперметрин и бифентрин в свою очередь на уровнях, близких к 0,025 мг/кг. Данные показатели более чем в 4 раза ниже, чем минимально допустимые уровни, законодательно регламентируемые в нашей стране.

Визуализация полученных данных в графическом изображении (рисунок 4) и расчет коэффициентов детерминации, значения которых очень близки к единице, указывают на бесспорно высокую точность произведенной градуировки.



Примечание: шкала абсцисс – площадь пика на хроматограмме, шкала ординат – концентрация д.в., мкг/мл.

Рисунок 4 – Градуировочная зависимость среднего значения площади пика д.в. от его концентрации в градуировочном растворе

Обобщение полученных практических и расчетных материалов в сочетании с подобранными условиями хроматографирования позволили приступить к разработке метода пробоподготовки. Тестовым материалом для основных экспериментов в данном случае служили пробы из семян рапса ярового и полученного из них масла. И в первом, и во втором вариантах это объекты, располагающие повышенным содержанием растительных масел, которые и создают основные трудности при проведении анализов. Основываясь на этом факте и требованиях к современным методам обнаружения остаточных количеств пестицидов, для пробоподготовки однозначно выбрали описанный ранее метод QuEChERS, но подход к его осуществлению уже был оригинальным.

В итоге при экстракции действующих веществ из семян и масла рапса использовали смесь сульфата магния (4 г), хлористого натрия (1 г) и цитратного буфера (1 г $\text{Na}_3\text{Citrate}$; 0,5 г $\text{Na}_2\text{HCitrate}$). Для решения проблемы по снижению содержания жиров, было принято решение на стадии дисперсионной твёрдофазной экстракции использовать селективный для липидов сорбент С18 (октадецил-силикагель) в количестве 150 мг в смеси с 900 мг сульфата магния и 150 мг сорбента PSA. Это позволило резко снизить содержание жиров в конечном экстракте. Процент извлечения присутствующих в рапсовом масле всех трех действующих веществ уже при первом испытании был не ниже 75%.

В усовершенствованной версии пробоподготовка для семян и масла рапса приобрела конкретную схему и свои экспериментально обоснованные параметры. Так изначально отобранная и измельченная навеска (матрица) из 10 г масла или семян помещается в полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 см³ и в нее последовательно добавляется 10 см³ ацетонитрила, 5 см³ дистиллированной воды (для семян), 1 г хлористого натрия и 1,5 г цитратного буфера. Герметично закрытая пробирка помещается на 10 минут в перемешивающее устройство и затем центрифугируется в течение 10 минут при 4000 оборотов в минуту. От верхнего ацетонитрильного слоя пипеточным дозатором отбирается 5 см³ с последующим перемещением экстракта в центрифужную пробирку вместимостью 15 см³, уже содержащую 150 мг PSA, 150 мг С18 и 900 мг безводного сульфата магния. Затем плотно закрытая пробирка помещается поочередно в перемешивающее устройство на 10 минут и центрифугу в течение 10 минут при 4000 оборотов/мин.

При экстракции же действующих веществ из зеленой массы рапса применялась смесь из сульфата магния (4 г), хлористого натрия (1 г) и цитратного буфера (1,5 г) без какой-либо последующей очистки. Из-за низкого предела обнаружения циперметрина в зеленой массе, учитывая подходы в ранее зарегистрированных методиках и наличие на хроматограмме трех близких пиков (рисунок 3), возникла необходимость подбора метода экстракции с максимальной степенью извлечения и чистотой фона во временных областях обнаружения

исследуемых действующих веществ. В результате было опробовано несколько различных процедур и количественных сочетаний веществ (таблице 4) в рамках экстракции проб из урожая рапса, в том числе такие как, вымораживание (без использования экстракционных солей); добавление смеси 4 г сульфата магния и 1 г хлористого натрия или стандартный ацетонитрил заменяли на смесь ацетонитрил-ацетон (9:1) и гексан-ацетон (7:3).

Таблица 4 – Апробированные варианты экстракционных составов при определении действующих веществ инсектицидов в зеленой массе рапса ярового

Условия проведения и комбинации ингредиентов	Степень извлечения, %		
	хлорпирифос	бифентрин	циперметрин
4 г MgSO ₄ + 1 г NaCl + 10 мл ацетонитрила	60,1	37,7	44,6
1,5 г NaCl + 10 мл ацетонитрила	87,6	42,3	65,5
Вымораживание без экстракционных солей	59,2	37,4	35,1
4 г MgSO ₄ + 1 г NaCl + 10 мл ацетонитрила + 100 мкл HCOOH	65,6	39,6	39,0
4 г MgSO₄ + 1 г NaCl + 1,5 г цитратный буфер + 10 мл ацетонитрила	<u>92,4</u>	<u>77,5</u>	<u>87,6</u>
4 г MgSO ₄ + 1 г NaCl + 1,5 г цитратный буфер + 10 мл смеси ацетонитрил-ацетон (9:1)	59,9	38,8	40,1
4 г MgSO ₄ + 1 г NaCl + 1,5 г цитратный буфер + 10 мл смеси гексан-ацетон (7:3)	68,1	46,0	46,1

По результатам проведенных экспериментов и был выделен наиболее подходящий вариант для экстракции исследуемого нами материала. Данные таблицы 4 однозначно указывают на то, что сочетание именно «чистого» ацетонитрила с использованием тех же количеств сульфата магния, хлористого натрия и цитратного буфера обеспечивало наивысший процент извлечения в

отношении не только каждого из трех определяемых действующих веществ отдельно, но и при их совместном контроле. На этом фоне обозначенный подход способствует повышению показателей по извлечению хлорпирифоса, в сравнении с другими вариантами, на величину от 5 до 33%, бифентрина – в общем более 30% и циперметрина – не менее 22%.

Продолжение экспериментов позволило упростить и скоординировать действия при работе с зеленой массой растений рапса. Здесь уже не возникало необходимости в дальнейшей очистке исследуемых проб, а все основывалось лишь на использовании определенной смеси экстракционных солей. В итоге была обоснована и протестирована методика пробоподготовки данного субстрата, содержание которой заключается в формировании навески из измельченной надземной части растений с массой в 10 г и также с помещением ее в полипропиленовую центрифужную пробирку вместимостью 50 см³. Далее требуется последовательно добавить 10 см³ ацетонитрила, 5 см³ дистиллированной воды, 1 г хлористого натрия и 1,5 г цитратного буфера. Непроницаемо закрытая пробирка помещается на 10 минут в перемешивающее устройство, а затем и в центрифугу с режимом работы в течение также 10 минут и при 4000 об./мин. Результаты последующего количественного определения действующих веществ на газовом хроматографе «Хроматэк Кристалл 5000» с электронно-захватным детектором подтверждают явное повышение качества анализа в сравнении с использованием при пробоподготовке метода вымораживания (рисунок 5). На что однозначно указывает сравнительно ровный профиль хроматограммы и особенно в тех временных зонах, где предполагается обнаружение хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина. Условия хроматографирования здесь использовались аналогичные методу определения этих д.в. в семенах и масле рапса.

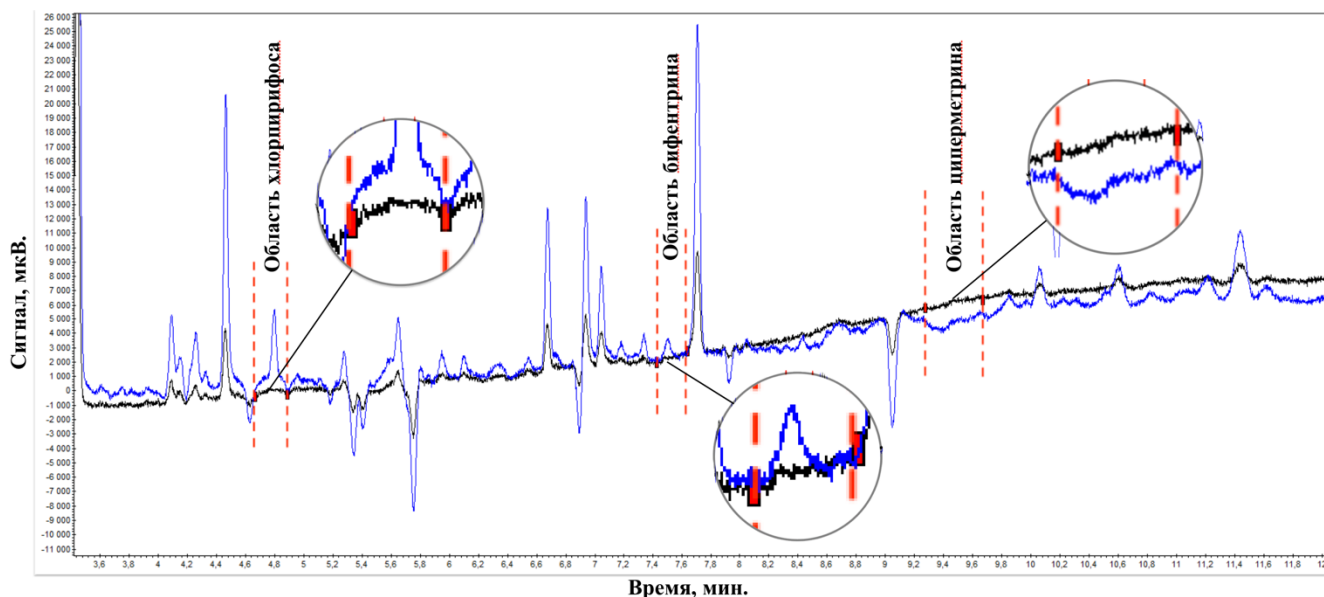


Рисунок 5 – Результаты контроля действующих веществ инсектицидов в растениях рапса (синяя линия - пробоподготовка с вымораживанием; черная – трансформированная методика)

Для каждой исследуемой матрицы проводили внутрилабораторную валидацию метода по верхнему и нижнему пределу определения. Число определений по уровням внесения контролируемых веществ соответствовало пятикратному повторению. В итоге установлены значения такого показателя, как полнота извлечения для всех трех охваченных контролем веществ (хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина) из зеленой массы, урожая и масла рапса, представленные наряду со стандартным отклонением и доверительными интервалами в таблице 5.

Таблица 5 – Параметры показателей метода контроля остаточных количеств инсектицидов в рапсе

Матрица	Действующее вещество	Предел количественного определения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения и доверительный интервал, %	Стандартное отклонение, S, %
Зеленая масса	Хлорпирифос	0,01	0,01 – 0,1	92,4 ± 1,7	3,9
	Бифентрин	0,05	0,05 – 0,5	77,5 ± 1,6	3,6
	Циперметрин	0,005	0,005 – 0,05	87,6 ± 1,7	3,8

Продолжение таблицы 5

Матрица	Действующее вещество	Предел количественного определения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения и доверительный интервал, %	Стандартное отклонение, S, %
Семена	Хлорпирифос	0,005	0,01 – 0,1	93,2 ± 1,9	4,5
	Бифентрин	0,01	0,05 – 0,5	82,4 ± 0,9	2,3
	Циперметрин	0,05	0,05 – 0,5	88,4 ± 2,1	4,7
Масло	Хлорпирифос	0,005	0,01 – 0,1	93,0 ± 1,9	4,3
	Бифентрин	0,01	0,05 – 0,5	83,8 ± 2,2	5,1
	Циперметрин	0,05	0,05 – 0,5	88,3 ± 1,5	3,3

Средние значения по результатам контроля исследуемых действующих веществ в урожае рапса находятся в диапазоне от 77,5% до 93,2%. На этом фоне в целом, согласно приведенным данным, наивысший процент извлечения (около 93%) достигается в отношении хлорпирифоса, а величина показателя по отдельным д.в. практически не зависит от анализируемого субстрата. Данные факты указывают на высокую результативность и надежность разработанного метода. Размерность же доверительного интервала средних величин с большой долей вероятности можно рассматривать в качестве подтверждения стабильности результатов и их высокую воспроизводимость.

3.3 Валидация метода для определения остаточных количеств инсектицидов в урожае подсолнечника и сои

Продолжение исследований в направлении расширения сферы применения и фактическое подтверждение универсальности подхода к пробоподготовке было связано с включением в работу матриц, сформированных из надземной части растений, семян и масла других маслических культур. Материал для анализа отобран, в том числе во второй и третьей почвенно-климатических зонах страны, где проводилось изучение в рамках регистрационных испытаний биологической

эффективности и безопасности инсектицидов на основе хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина.

Естественно, в первую очередь интерес в этом плане представляла процедура валидации разработанного метода в отношении подсолнечника и сои, выступающих основными культурами в группе масличных. Решение задачи совместного определения остаточных количеств указанных действующих веществ в зеленой массе, масле и урожае этих культур, как и в случае с рапсом, обусловлено существенным расширением занимаемых ими площадей, а соответственно и увеличением объемов применения защитных средств.

Условия хроматографирования применялись на основе уже разработанной нами методики. Для количественного определения действующих веществ так же пользовались методом абсолютной градуировки.

Однако в процессе проведения экстракции на этапе пробоподготовки столкнулись с проблемой низкой насыпной плотности измельченного урожая подсолнечника. В связи с невозможностью отбора необходимой аликвоты из ацетонитрильного слоя, эксперименты были продолжены с добавлением в сухую пробу удвоенного объема (10 мл) дистиллированной воды.

По результатам проведенных аналитических действий и обобщений полученных материалов определены количественные значения, характеризующие результативность разработанного метода при совместном извлечении хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина из растительного материала и масла подсолнечника и сои (таблица 6, 7).

Таблица 6 – Параметры показателей метода контроля остаточных количеств инсектицидов в урожае подсолнечника

Матрица	Действующее вещество	Предел количественного определения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения и доверительный интервал, %	Стандартное отклонение, S, %
Зеленая масса	Хлорпирифос	0,01	0,01-0,1	88,7 ± 0,9	2,3
	Бифентрин	0,05	0,05-0,5	80,9 ± 2,0	4,6

Продолжение таблицы 6

Матрица	Действующее вещество	Предел количественного определения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения и доверительный интервал, %	Стандартное отклонение, S, %
Зеленая масса	Циперметрин	0,005	0,005-0,05	89,2 ± 1,6	3,8
Семена	Хлорпирифос	0,025	0,025-0,25	92,6 ± 1,6	3,6
	Бифентрин	0,01	0,01-0,1	83,1 ± 1,4	3,2
	Циперметрин	0,05	0,05-0,5	87,2 ± 1,9	4,3
Масло	Хлорпирифос	0,025	0,025-0,25	90,2 ± 1,5	3,4
	Бифентрин	0,01	0,01-0,1	85,4 ± 1,8	4,1
	Циперметрин	0,05	0,05-0,5	86,6 ± 1,9	4,4

Таблица 7 – Параметры показателей метода контроля остаточных количеств инсектицидов в урожае сои

Матрица	Действующее вещество	Предел количественного определения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения и доверительный интервал, %	Стандартное отклонение, S, %
Зеленая масса	Хлорпирифос	0,01	0,01-0,1	89,8 ± 1,0	2,2
	Бифентрин	0,05	0,05-0,5	83,5 ± 1,9	4,4
	Циперметрин	0,005	0,005-0,05	87,3 ± 1,3	2,9
Семена	Хлорпирифос	0,005	0,005-0,05	89,3 ± 2,0	4,5
	Бифентрин	0,01	0,01-0,1	82,7 ± 1,2	2,7
	Циперметрин	0,005	0,005-0,05	86,4 ± 1,4	3,2
Масло	Хлорпирифос	0,005	0,005-0,05	91,4 ± 2,0	4,6
	Бифентрин	0,01	0,01-0,1	78,0 ± 1,9	4,4
	Циперметрин	0,05	0,05-0,5	89,1 ± 1,6	3,6

Обобщенные данные, представленные в таблицах 6 и 7, свидетельствуют об абсолютной идентичности показателей предела количественного обнаружения и

диапазона определяемых концентраций трех д.в. вне зависимости от исследуемой культуры. При этом размерность показателей кратно различается с однозначно наилучшими (0,005 в сравнении с 0,05 и 0,01 мг/кг) характеристиками в отношении контроля циперметрина.

Что касается определений д.в. в урожае и масле подсолнечника, то здесь установлена явная разница с превышением в 5 раз значений предела количественного определения хлорпирифоса от таковых и по рапсу (таблица 5), и по сое (таблица 7). Диапазоны определяемых концентраций обладают гораздо большей изменчивостью по культурам. При десятикратной размерности диапазонов касательно первого из указанных д.в. (хлорпирифоса), величина его значений определяется интервалом с максимальными значениями 0,025-0,25 мг/кг при изучении матриц из урожая подсолнечника и минимальными - 0,005-0,05 мг/кг из семян и масла сои. Показатели с интервалом в 0,01-0,1 мг/кг для проб из урожая рапса в этом плане занимают промежуточное положение. Определение же содержания бифентрина при анализах семян и масла из урожаев подсолнечника и сои ограничивается диапазоном, соизмеримым с таковым по хлорпирифосу на рапсе (0,01-0,1 мг/кг). Для циперметрина практически во всех анализах семян и масла трех культур величина обуславливалась нижним пределом в 0,05 мг/кг (таблица 5, 6, 7). Что показывает несомненную чувствительность разработанной методики.

Полученные результаты выступают подтверждением эффективности методического подхода к совместному определению остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в субстрате из урожая масличных культур. Достигнутая степень извлечения при этом в общем соответствует уровням не ниже 80% (таблица 5, 6, 7). На этом фоне все же следует отметить проявление некоторых нюансов в полученных результатах. Так, лучшие показатели, достигающие 93%, по определению в пробах, причем не зависимо от определяемой концентрации, однозначно соответствуют извлечению хлорпирифоса.

Все приведенные выше материалы в итоге указывают на принципиальное решение поставленной задачи, то есть разработан метод совместного определения

остаточных количеств сразу трех (хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина) действующих веществ инсектицидного назначения в зеленой массе, урожае и масле рапса ярового, характеризующийся как высокой степенью извлечения, так и низкими пределами определения.

Последующая процедура валидации метода на растительном материале и масле подсолнечника и сои после применения на посевах этих культур инсектицидов с указанными действующими веществами однозначно подтвердила действенность разработки. Уровни средних значений определения хлорпирифоса здесь также близки к 90%, бифентрина – к 80% и циперметрина – однозначно превышают 86%. Данные результаты дополнительно указывают на то, что разработанный метод способен обеспечивать высокие и, опираясь на значения доверительных интервалов, стабильные показатели извлечения остатков инсектицидов из зеленой массы, урожая и продуктов его переработки. Кроме того, размерность доверительного интервала среднего результата указывает на явную высокую воспроизводимость полученных результатов.

Особого внимания из результатов проведенных исследований заслуживает еще один важный момент. Фактически основной упор в процессе разработки сделан именно на возможность совместной идентификации нескольких действующих веществ. Эта особенность должна была обозначить и выделить осуществленную разработку на фоне описанных ранее индивидуальных методов. Однако фактически применение разработки не только не исключает, но и может выступить современным элементом, дополняющим перечень методов, направленных на исследование или контроль остатков препаратов, содержащих любое из трех изученных веществ.

ГЛАВА 4. АПРОБАЦИЯ РАЗРАБОТАННОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ИНСЕКТИЦИДОВ

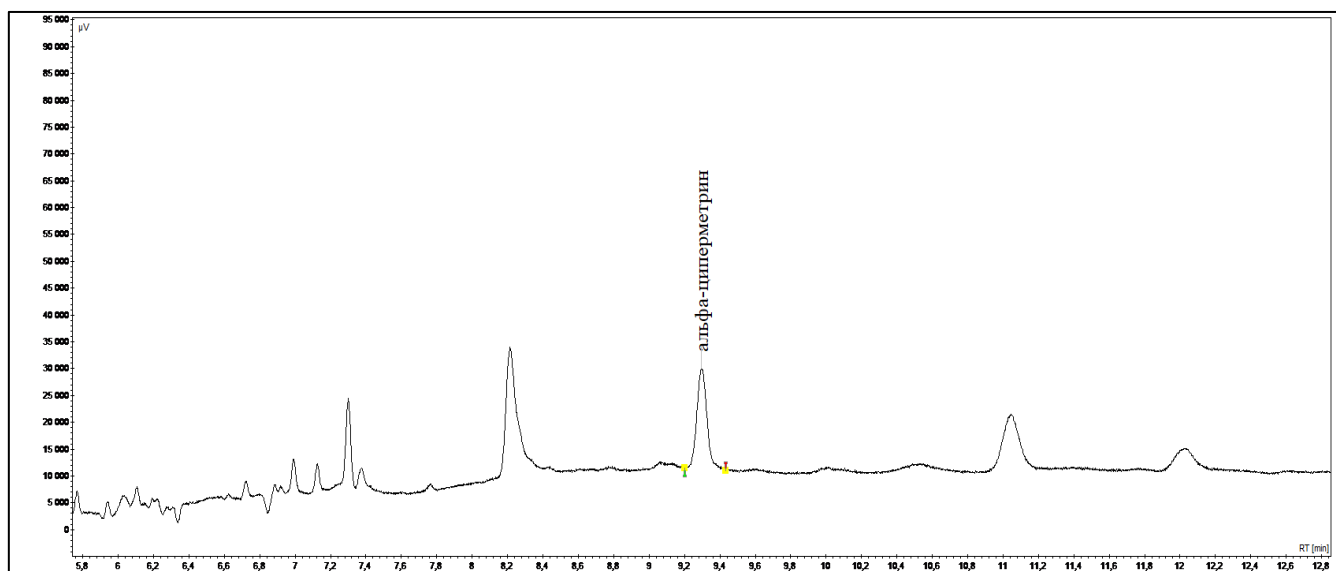
Для подтверждения практической значимости и универсальности разработанного метода был проведен ряд экспериментов и анализов с использованием урожая масличных культур, посеvy которых применялись в рамках оценки биологической эффективности инсектицидов в том числе в других почвенно-климатических зонах страны. Данные исследования как раз и выступили доказательной базой не только результативности, но и оригинальности предлагаемой схемы пробоподготовки и разработанного метода в целом. В исследование содержания остаточных количеств были включены отечественные препараты, один из которых содержит индивидуально действующее вещество из класса пиретроидов (альфа-циперметрин), более 15 лет разрешенный для применения на посевах рапса и представленный к расширению сферы на сою и подсолнечник. Два других представляют собой комбинацию пиретроида и фосфорорганического соединения. Данный выбор позволял включить в эксперименты все три изначально задействованных в работе д.в. Кроме этого, изучение динамики распада остаточных количеств комбинированного инсектицида в растениях и элементах урожая рапса было расширено за счет как повторного применения, так и использования двойной в сравнении с рекомендованной нормы применения.

4.1 Результаты контроля остаточных количеств циперметрина

С помощью созданного метода, как уже было обосновано ранее, есть возможность контролировать остатки циперметрина, как смесь изомеров, так и его отдельные составляющие. Расширение в последние годы сферы применения препарата Фаскорд, КЭ, содержащего только альфа-циперметрин, и, соответственно, возможность вовлечения в исследование обширного материала, послужили аргументом для выбора этого инсектицида.

Базовым материалом для изучения деградации препарата были пробы из урожая сои и подсолнечника, на посевах которых проводились испытания инсектицида Фаскорд, КЭ (100 г/л альфа-циперметрина) в разных почвенно-климатических зонах страны. Основой их служили полевые опыты с использованием делянок размером 50 м² в 4-кратной повторности. Норма препарата составляла из расчета 0,3 л/га с применением в фазу бутонизации культуры.

Результат одного из определений остаточных количеств альфа-циперметрина в зеленой массе растений сои отражает хроматограмма, представленная на рисунке 6.



Примечание: шкала абсцисс – время, мин, шкала ординат – сигнал, мкВ.

Рисунок 6 – Хроматограмма экстракта из зеленой массы сои

В целом на хроматограмме отчетливо идентифицируется сигнал альфа-циперметрина. Временной интервал идентификации сигнала соответствовал 9,2 – 9,5 минутам. При этом фон в районе всего пика стабильный, не обнаружено и помех со стороны содержания пробы. Следует отметить, что образец конкретно для этого анализа был отобран в опыте, проведенном в условиях Краснодарского края.

Результаты продолжения исследования с более расширенным набором проб (зеленая масса, бобы, масло) из урожая сои, в результате которого была определена тенденция деградации препарата Фаскорд, КЭ, представлены в таблице 8.

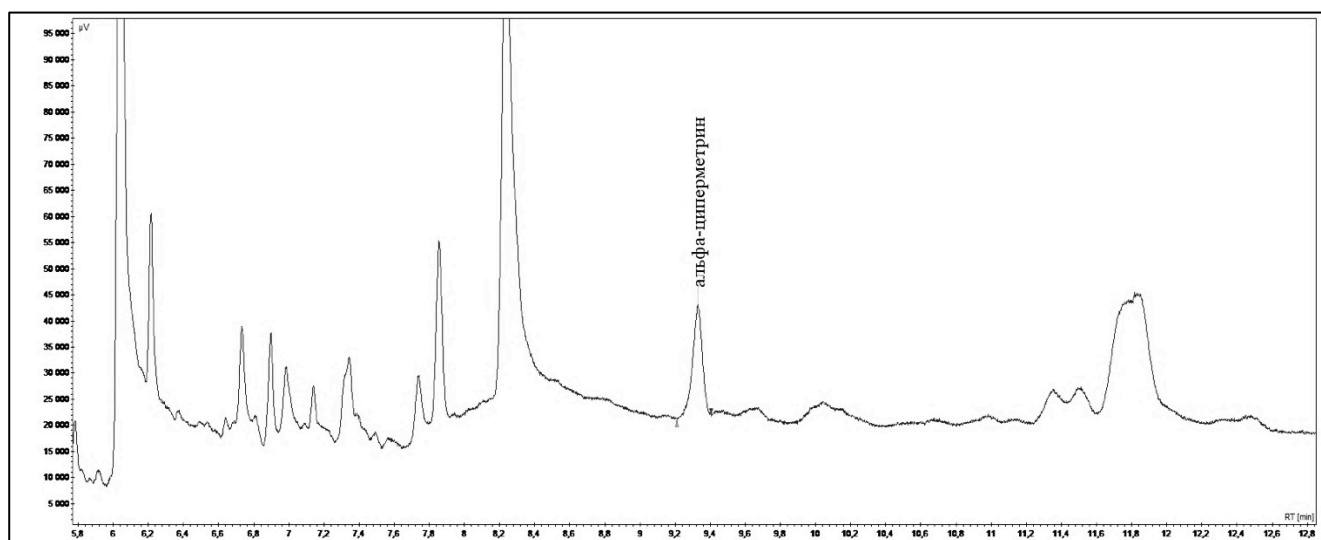
Таблица 8 – Содержание остаточных количеств альфа-циперметрина в растениях и урожае сои

Срок после обработки	Анализируемый объект	Содержание д.в. в анализируемом объекте, мг/кг		
		Орловская область	Краснодарский край	Волгоградская область
День обработки	зеленая масса	0,594	0,283	0,585
7 сутки	зеленая масса	0,286	0,088	0,486
14 сутки	зеленая масса	0,112	0,027	0,284
21 сутки	бобы	н/о	н/о	н/о
	масло	н/о	н/о	н/о
28 сутки	бобы	н/о	н/о	н/о
	масло	н/о	н/о	н/о

Полученные данные прежде всего подтвердили эффективность разработанного метода. При этом установлено, что остатки препарата Фаскорд, КЭ (100 г/л) присутствуют в растениях сои в течение двух недель после проведения обработки, что в общем совпадает со сроком проявления биологической эффективности в отношении вредителей культуры. В плане безопасности получаемой продукции из материалов таблицы 8 однозначно следует, что в урожае и полученном из него масле ни в одном из исследуемых образцов не было обнаружено (н/о) остатков альфа-циперметрина. Процесс же деградации данного д.в. в надземной части растений сои существенно различался по регионам размещения опытов. Изначально и далее по вегетации наиболее интенсивно он протекал в условиях Краснодарского края, относительно же пропорционально по датам учетов происходило снижение в первой почвенно-климатической зоне. В Волгоградской области (III зона) содержание альфа-циперметрина в зеленой массе характеризовалось сравнительно высокими показателями и здесь есть вероятность сохранения препарата в растениях даже до 20 дней. Однако еще раз следует указать, что получаемая после уборки культуры продукция была безопасной.

Аналогичные аналитические процедуры с использованием разработанной методики проведены и для изучения деградации инсектицида Фаскорд, КЭ (100 г/л) после его применения на посевах подсолнечника. В исследовании были задействованы пробы подсолнечника, отобранные также в трёх почвенно-климатических зонах. Размер опытных делянок, количество повторностей, сроки и норма (0,3 л/га) применения препарата соответствовали таковым на сое.

По итогам экспериментов получены схожие с исследованием на сое результаты. Прежде всего это наличие интенсивного пика на хроматограмме, отражающего наличие в проанализированном экстракте зеленой массы растений подсолнечника, отобранных также во II зоне (Саратовская область), альфа-циперметрина (рисунок 7).



Примечание: шкала абсцисс – время, мин, шкала ординат – сигнал, мкВ.

Рисунок 7 – Хроматограмма экстракта из зеленой массы подсолнечника с содержанием альфа-циперметрина

Причем сигнал также отчетливо, как и в случае с анализом сои, идентифицируется на хроматограмме с достаточно ровным для точного определения и расчета площади профилем в районе пика, без помех со стороны матрицы. Временной интервал сигнала лежит опять же, как и в предыдущем исследовании, в диапазоне от 9,2 до 9,5 минут.

Результаты определения остаточных количеств альфа-циперметрина в пробах подсолнечника представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Содержание остаточных количеств альфа-циперметрина в растениях и урожае подсолнечника

Срок после обработки	Анализируемый объект	Содержание д.в. в анализируемом объекте, мг/кг		
		Орловская область	Саратовская область	Ростовская область
День обработки	зеленая масса	1,266	0,762	2,718
7 сутки	зеленая масса	0,397	0,227	1,325
14 сутки	зеленая масса	0,016	н/о	0,053
21 сутки	семянки	н/о	н/о	н/о
	масло	н/о	н/о	н/о
28 сутки	семянки	н/о	н/о	н/о
	масло	н/о	н/о	н/о

Так, полученные результаты указывают на явно большее содержание контролируемого вещества в растениях подсолнечника в день применения инсектицида во всех трех зонах и в то же время, судя по изменениям значений показателя, деградация проходит здесь гораздо активнее, чем при обработках сои. В итоге в условиях II зоны альфа-циперметрин не обнаруживался уже на 14 сутки после применения, а в двух других – его содержание в зеленой массе подсолнечника было более чем в 5 раз ниже в сравнении с экстрактом из растений сои. В исследованных далее образцах урожая и подсолнечного масла отсутствовали даже следовые количества данного действующего вещества.

Кроме этого, на основе сопоставления полученных значений содержания альфа-циперметрина в зеленой массе двух культур просматривается некоторая зависимость интенсивности его деградации от региона проведения эксперимента. Однозначно процесс разложения выглядит несколько менее активным в I-й (Орловская область) и еще сдержаннее в III-ей почвенно-климатической (Волгоградская и Ростовская области) зоне.

В качестве итога изложенного в разделе материала необходимо отметить еще одно подтверждение практической значимости разработанного метода,

показавшего свою эффективность при контроле остаточных количеств препарата, содержащего не смесь, а всего один изомер циперметрина.

4.2 Результаты совместного контроля остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина

Следующий этап проверки работоспособности метода касался уже совместного определения остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина в масличных культурах. Тестируемым объектом здесь выступил комбинированный препарат Пирелли, КЭ (400 г/л +20 г/л).

В полевых опытах обработка вегетирующих растений рапса выполнялась в начале бутонизации культуры с отбором проб в аналогичные с предыдущим экспериментом временные промежутки. Препарат применялся в норме 0,5 л/га, а расход рабочей жидкости составлял в пределах 300-350 л/га. Закладка опытов и отбор проб проводились два сезона подряд (2021 и 2022 годы) в третьей почвенно-климатической зоне на территории Ленинградской области. Ярким примером надежности и достоверности совместного анализа в одной пробе двух д.в. может служить хроматограмма экстракта из зеленой массы рапса (рисунок 8).

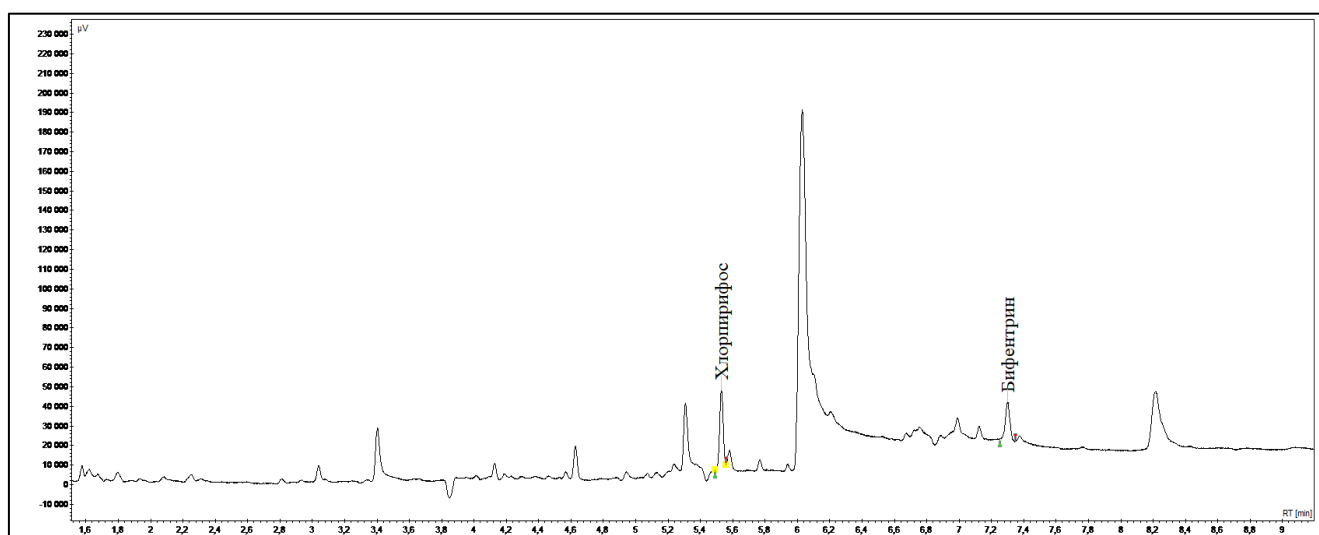


Рисунок 8 – Хроматограмма экстракта из зеленой массы рапса ярового с содержанием хлорпирифоса и бифентрина

Согласно представленной на рисунке хроматограмме, сигналы хлорпирифоса и бифентрина отлично идентифицируются. Такой результат однозначно

обеспечивается за счет сочетания корректно подобранной схемы пробоподготовки и оптимальных условий хроматографирования.

В общем динамика разложения остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина в пробах рапса (таблица 10) в определенной степени сопоставима с результатами по альфа-циперметрину на других (таблица 8, 9) культурах.

Таблица 10 – Содержание остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина в растениях и урожае рапса ярового

Срок после обработки	Анализируемый объект	Содержание д.в. в анализируемом объекте, мг/кг			
		хлорпирифос		бифентрин	
		2021	2022	2021	2022
День обработки	зеленая масса	1,205	1,083	0,411	0,306
7 сутки	зеленая масса	0,631	0,485	0,103	0,096
14 сутки	зеленая масса	0,098	0,079	н/о	н/о
21 сутки	семена	н/о	н/о	н/о	н/о
	масло	н/о	н/о	н/о	н/о
28 сутки	семена	н/о	н/о	н/о	н/о
	масло	н/о	н/о	н/о	н/о

При этом результаты определения остаточных количеств указанных веществ в оба сезона проведения исследований указывают на наличие тождественности в численных значениях и их изменениях в ходе деградации. Присутствующие различия в содержаниях хлорпирифоса и бифентрина по сезонам скорее всего обусловлены складывающимися метеорологическими условиями. Они оказывали влияние не только на развитие растений культуры, но и на процессы деградации препарата. В общем же из приведенных данных следует, что полная деградация обоих д.в. происходит еще на этапе формирования растениями зеленой массы и, судя по показателям у бифентрина, этот процесс может завершиться даже менее чем за 14 суток. Поэтому, как и в исследованиях с инсектицидом на основе альфа-

циперметрина, остаточных количеств ни одного из изучаемых действующих веществ не было обнаружено ни в урожае, ни в полученном из него масле.

Таким образом, благодаря разработанному методу совместного определения остаточных количеств действующих веществ инсектицидного назначения, получены данные, подтверждающие безопасность получаемой при возделывании основных масличных культур продукции как при применении комбинированного препарата Пирелли, КЭ (400 г/л хлорпирифоса + 20 г/л бифентрина), так и содержащего один альфа-циперметрин Фаскорда, КЭ (100 г/л).

4.3 Динамика деградации комбинированного инсектицида в растениях рапса ярового

Для формирования более полного представления о процессах разложения двух (хлорпирифос и бифентрин) действующих веществ, представляющих разные химические классы, проведено детальное изучение динамики их деградации. В перспективе, на наш взгляд, это может оказать содействие в прогнозировании и установлении сроков ожидания для включаемых в ассортимент химических средств борьбы с вредителями.

Контроль деградации указанных действующих веществ осуществлялся с включением в исследование образцов зеленой массы и урожая рапса ярового сорта Ратник, отобранных в ходе двухгодичных полевых экспериментов с применением препарата Фосорган Дуо, КЭ (500 г/л хлорпирифоса + 25 г/л бифентрина) на территории Ленинградской области. Как уже отмечалось ранее, комбинация именно этих действующих веществ не только разрешена, но и довольно активно используется в защите масличных культур. Кроме того, данный препарат на момент начала исследований уже был включен Минсельхозом России в «План регистрационных испытаний пестицидов и агрохимикатов на 2020-2025 годы». Согласно установленным положениям (Методические указания по регистрационным испытаниям ... - С-Петербург, 2022) в работе по контролю деградации препарата наряду с рекомендованной нормой применения (0,6 л/га)

были задействованы варианты как с повторным внесением, так и с ее увеличением в два раза.

Пробоподготовка и анализ остаточных количеств действующих веществ проводили согласно оригинальной методике, описанной ранее. При этом исходная точка контроля, то есть в день обработки посевов, была представлена пробами из зеленой массы культуры. Результаты анализа, относительно времени детектирования хлорпирифоса (6,2 минуты) и бифентрина (8,4 минуты), как и профили пиков (рисунок 9), практически полностью соответствуют данным, полученным при анализе стандартов (рисунок 3) этих действующих веществ.

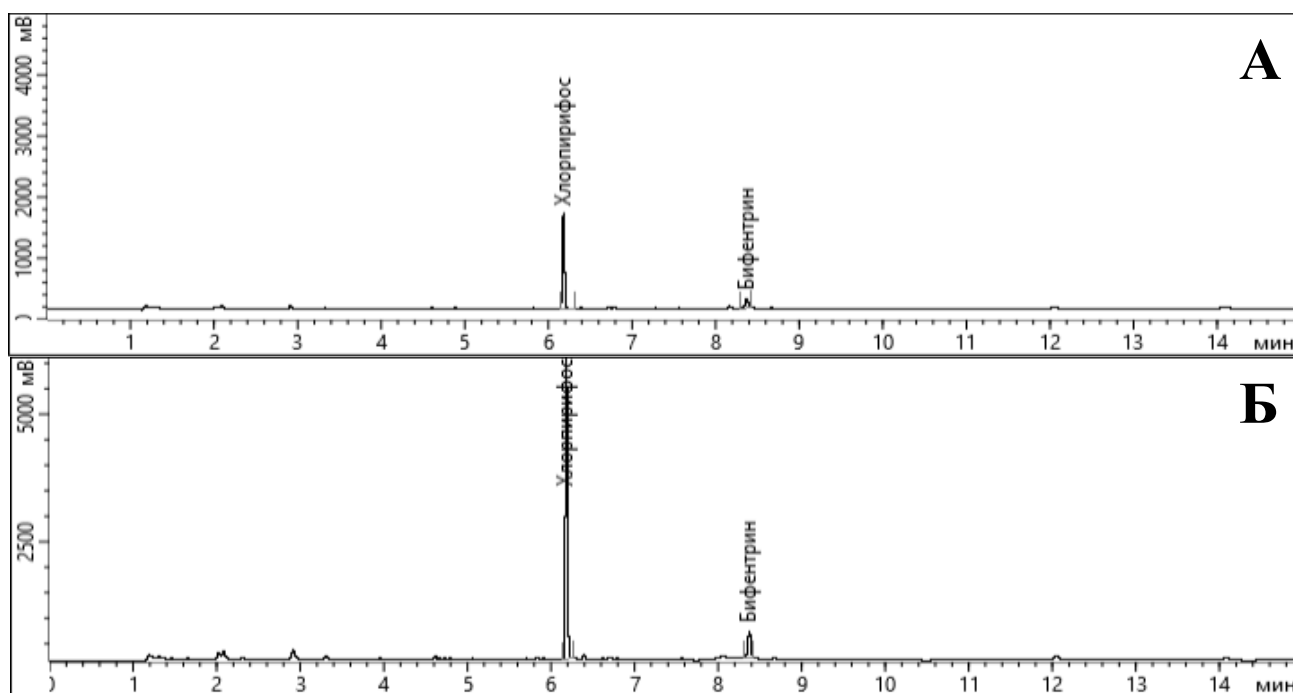


Рисунок 9 – Хроматограммы экстрактов проб зеленой массы рапса ярового в день применения инсектицида (А – норма - 0,6 л/га; Б – 1,2 л/га)

На хроматограммах отчетливо различимы сигналы целевых действующих веществ, а уровень фона довольно низкий. Установлено также, что время детектирования несколько отличается от аналогичного показателя в эксперименте с апробацией разработанного метода (рисунок 8) на базе препарата Пирелли, КЭ (400 г/л + 20 г/л). Причина кроется в том, что в целях подтверждения универсальности разработки использовались газовые хроматографы и хроматографические колонки разных производителей. Однако в целом подобные отклонения не влияли на точность и эффективность метода. Доказательством этому

выступает соизмеримость данных результатов с итогами анализов перед началом исследований стандартов действующих веществ в чистом растворителе (рисунок 3) с последующей обновленной градуировкой.

Результаты анализа проб растений и урожая рапса ярового, представляющие материал после обработки в нескольких вариациях инсектицидом и базирующиеся на пятикратной повторности, прежде всего, указывают на довольно активную деградацию инсектицида и смещение содержания его действующих веществ в зону ниже общепризнанных значений МДУ. Конкретно по каждой изученной версии это следует из графических отображений процесса деградации (рисунок 10-17) и более детально по каждой из контрольных точек подтверждается цифровым материалом, содержащимся в приложениях 1-5.

Анализ результатов изучения остаточных количеств д.в. при применении препарата Фосорган Дуо, КЭ указывает на то, что при однократной обработке посевов нормой 0,6 л/га, содержание в растениях рапса бифентрина в оба сезона (рисунок 10, 11) довольно активно снижается уже в первые трое суток после обработки.

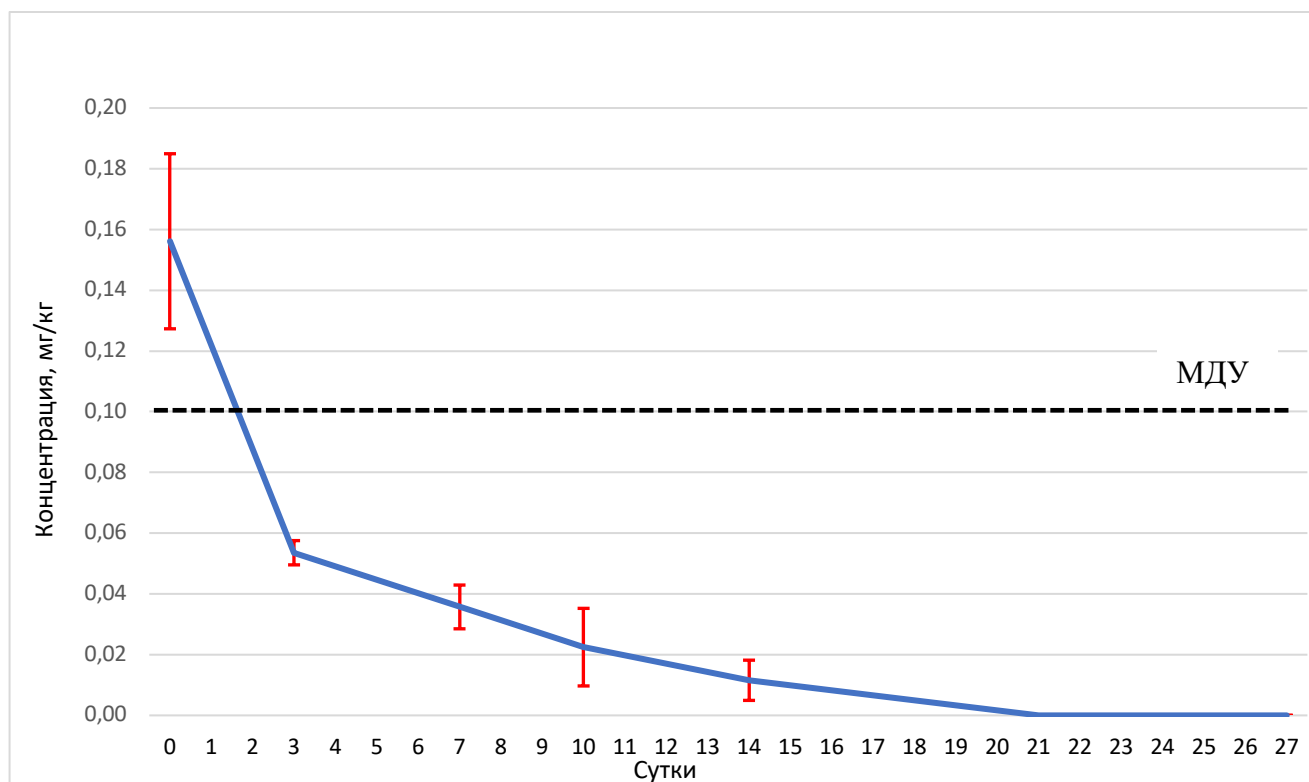


Рисунок 10 – Динамика деградации бифентрина при обработке посевов рапса инсектицидом в норме 0,6 л/га в условиях сезона 2021 года

Здесь можно утверждать, что отчетливая идентификация данного д.в. в растительных пробах производилась в среднем до 14 суток, что в целом совпадает с подтвержденным в ряде полевых опытов предельным сроком его инсектицидного действия. Сравнительно более продолжительное присутствие бифентрина в растениях, исходя из графиков деградации, возможно в условиях отсутствия после его применения осадков, как это можно наблюдать в сезоне 2021 года (таблица 11).

Таблица 11 – Метеоусловия в период проведения полевых экспериментов (по данным метеопоста Меньковского филиала ФГБНУ АФИ)

Дни отбора проб после обработки	2021 г.			2022 г.		
	средне суточная t, C ⁰	сумма осадков, мм	влажность воздуха, %	средне суточная t, C ⁰	сумма осадков, мм	влажность воздуха, %
0	24.6	0	69	20.5	0	72
3	25.3	1.8	73	17.5	0	70
7	16.0	0	72	20.1	27.4	85
В среднем за 7 суток	22.2	3.0	65.9	17.8	54.9	78.7
10	16.6	0	69	15.2	10.4	77
14	22.6	0	60	16.6	0	71
21	15.2	30.7	86	19.0	0	73
27	18.4	0	77	16.0	0	91
В среднем за период контроля	19.8	55.9	67.7	16.9	90.8	79.1

Стандартные отклонения в результатах контроля бифентрина указывают на определенные различия в концентрациях этого действующего вещества в отобранных растительных пробах лишь непосредственно после обработки (рисунок 10, 11). Это может быть связано как с технологией обработки, так и с

используемой моделью опрыскивателя, то есть даже обработки по установленному регламенту проведения полевого опыта не гарантируют абсолютно равномерного нанесения препарата на всю площадь поверхности растения. Примечательно, что в последующих пробах эти различия в преобладающем большинстве нивелируются.

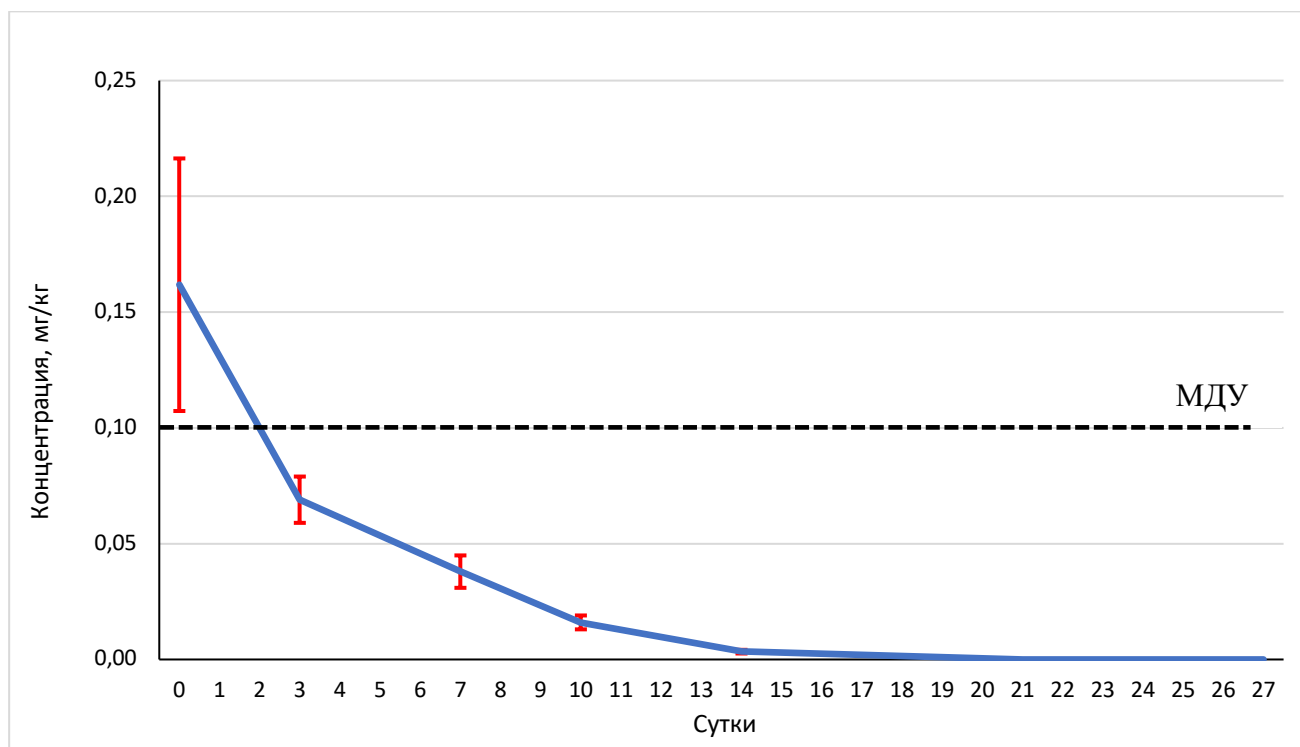


Рисунок 11 – Динамика деградации бифентрина при обработке посевов рапса инсектицидом в норме 0,6 л/га в условиях сезона 2022 года

Тем не менее полученные данные подтверждают практически полное разложение данного вещества задолго до уборки урожая культуры (приложение 1, 3) и, следовательно, его безопасность при использовании в рекомендованной для регистрации норме. Так, согласно проведенным испытаниям, во всех исследованных образцах из урожая ярового рапса не было зафиксировано и половины уровня МДУ бифентрина. В масле, полученном из семян в лаборатории, также не было обнаружено остаточных количеств данного действующего вещества.

На основании имеющихся в литературе данных, описанных ранее (разделы 1.2 и 1.3.5) и полученных в наших исследованиях результатов можно говорить о том, что хлорпирифос, обладающий некоторым системным действием, все же деградирует быстрее бифентрина. Проникая в мезофилл листа, хлорпирифос так

или иначе взаимодействует с ферментными системами растения, которые и ускоряют процесс разложения. Однако при той же норме применения снижение концентрации хлорпирифоса в растениях рапса до уровней ниже МДУ (рисунок 12, 13), причем в оба сезона, происходило лишь на 7 сутки после обработки, но зато неопределяемый предел содержания достигался уже в районе 14-х суток (приложение 1, 3).

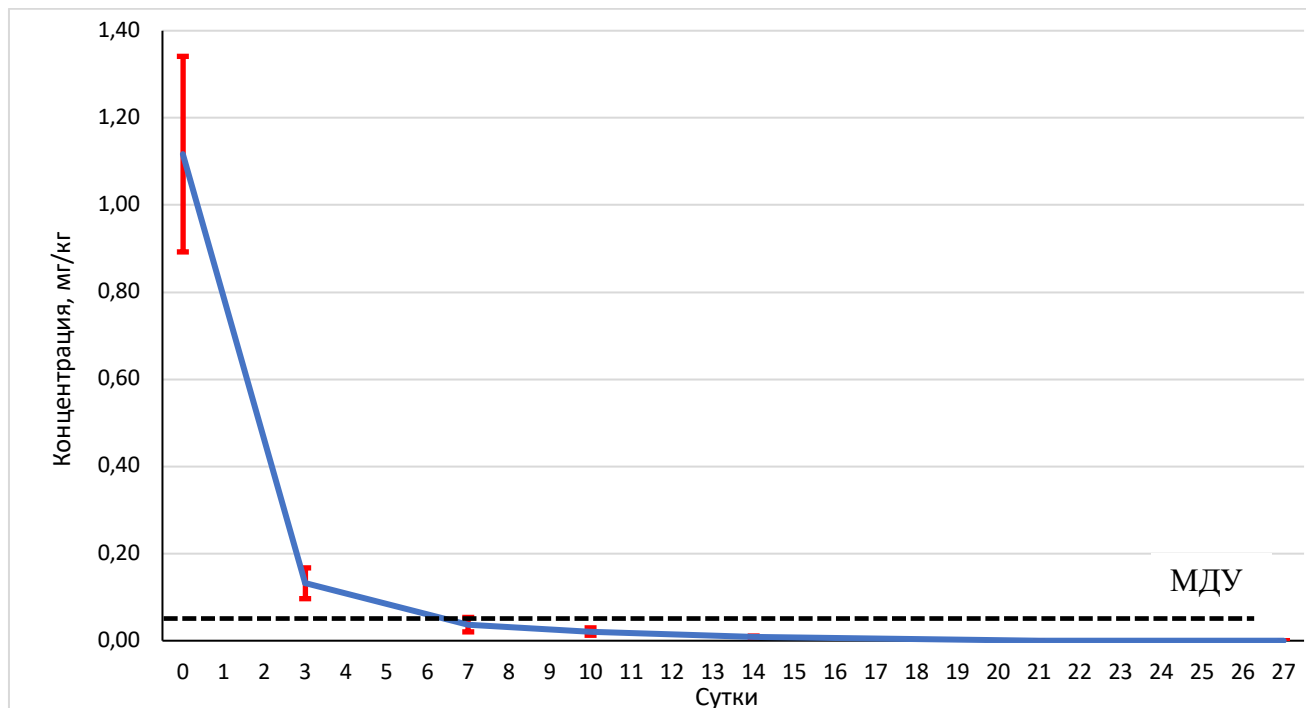


Рисунок 12 – Динамика деградации хлорпирифоса при обработке посевов рапса инсектицидом в норме 0,6 л/га в условиях сезона 2021 года

Подтверждением различия в скорости деградации двух действующих веществ выступает тот факт, что если в начальной точке (день обработки) усредненное содержание хлорпирифоса превышало аналогичный показатель по бифентрину в 7 раз, то на 10 сутки это различие стало всего лишь трехкратным. При этом в сравнительно влажных условиях лета 2022 года хлорпирифос отсутствовал в пробах из зеленой массы рапса уже на 14 сутки после обработки.

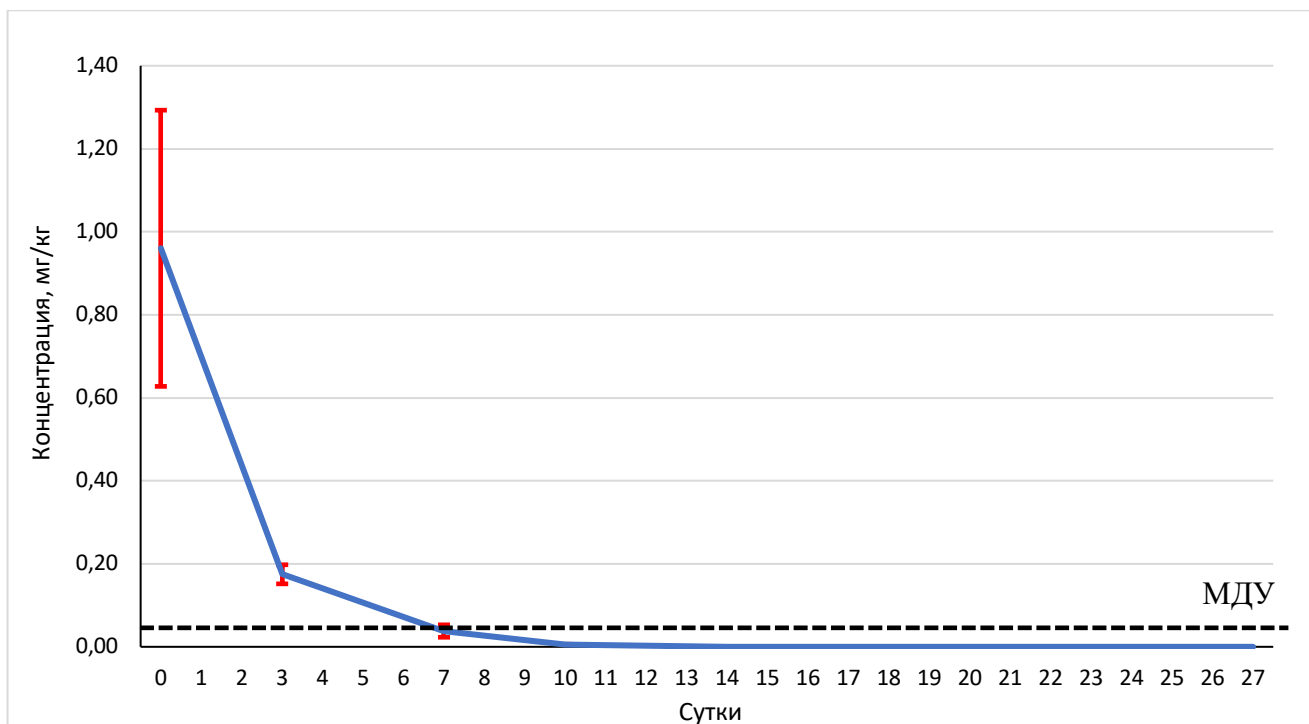


Рисунок 13 – Динамика деградации хлорпирифоса при обработке посевов рапса инсектицидом в норме 0,6 л/га в условиях сезона 2022 года

Заметные отклонения показателей по содержанию хлорпирифоса в растениях рапса, судя по величине стандартного отклонения наблюдались только непосредственно в день проведения обработки (рисунок 12, 13).

В итоге, исходя из представленного анализа, можно заключить, что наиболее активная деградация, определяемая в рамках обоих д.в. показателями ниже уровня МДУ, происходит в течение 7 суток. В дальнейшем остаточные количества инсектицида вполне могут обнаруживаться в растениях культуры еще две недели. На этом фоне распад фосфорорганического вещества происходит определенно быстрее бифентрина.

Расширение области эксперимента в направлении применения двойной нормы препарата (1,2 л/га), как определено в требованиях при изучении безопасности пестицидов, позволило не только расширить представления о процессе сохранения и деградации изучаемых д.в., но и подтвердить основные его аспекты.

Изменения определенно коснулись срока снижения концентрации бифентрина до уровня МДУ. Так увеличение нормы привело как можно было

предположить к росту начальной концентрации обоих действующих веществ, причем у представителя пиретроидов в среднем даже до трёх раз (с 0,156 до 0,492 и с 0,162 до 0,451 соответственно по сезонам) (приложения 1-4). Теперь период достижения безопасного уровня содержания по обоим д.в. практически сравнялся, то есть в отношении деградации хлорпирифоса сохранился на уровне 7 суток и соответствовал сроку после применения препарата в норме 0,6 л/га, а по бифентрину - вплотную приблизился к данному показателю. При этом предельное время идентификации действующих веществ осталось в тех же временных интервалах (у бифентрина до трех, хлорпирифоса до двух недель), что достаточно отчетливо отображается в графическом материале на рисунках с 14 по 17.

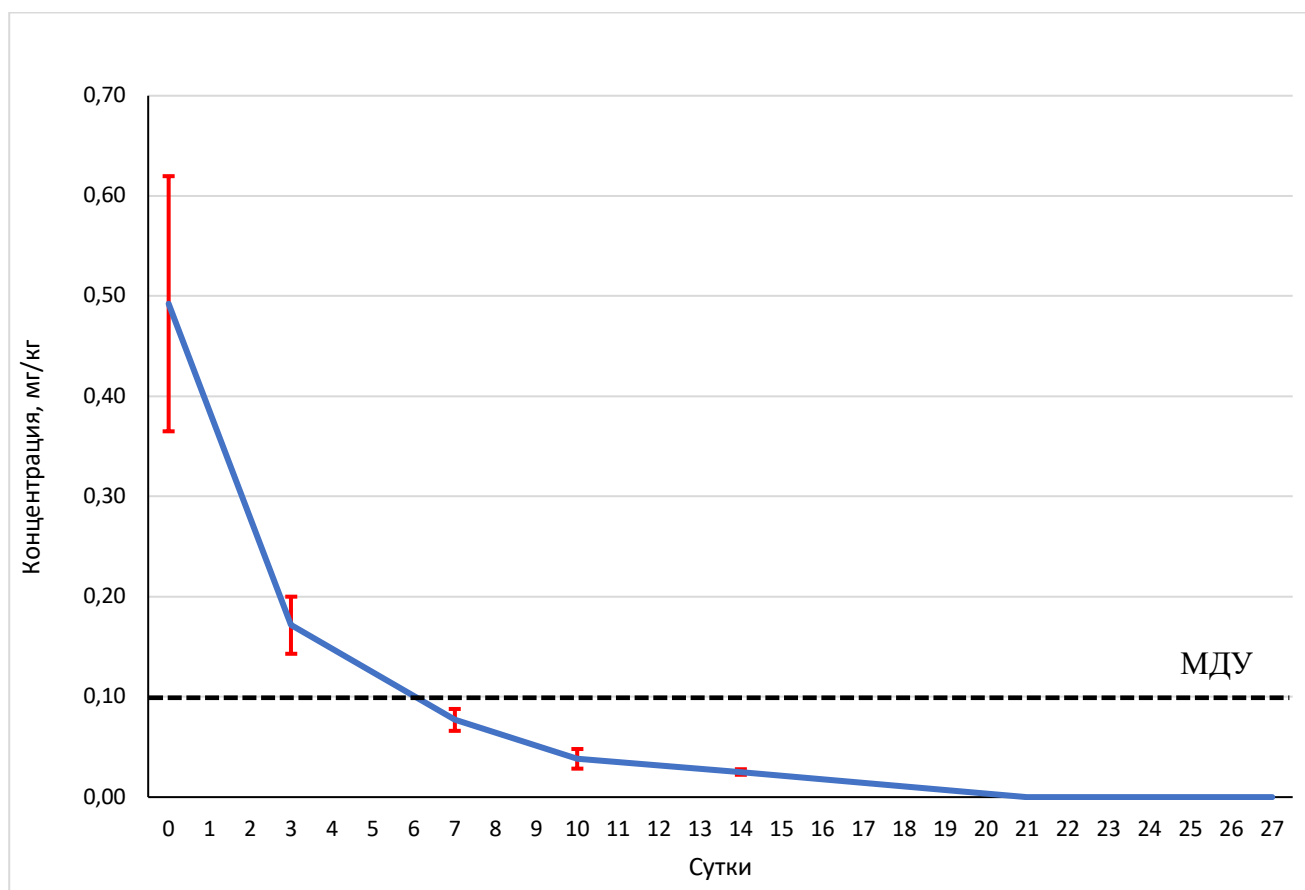


Рисунок 14 – Динамика деградации бифентрина при обработке посевов рапса инсектицидом в норме 1,2 л/га в условиях сезона 2021 года

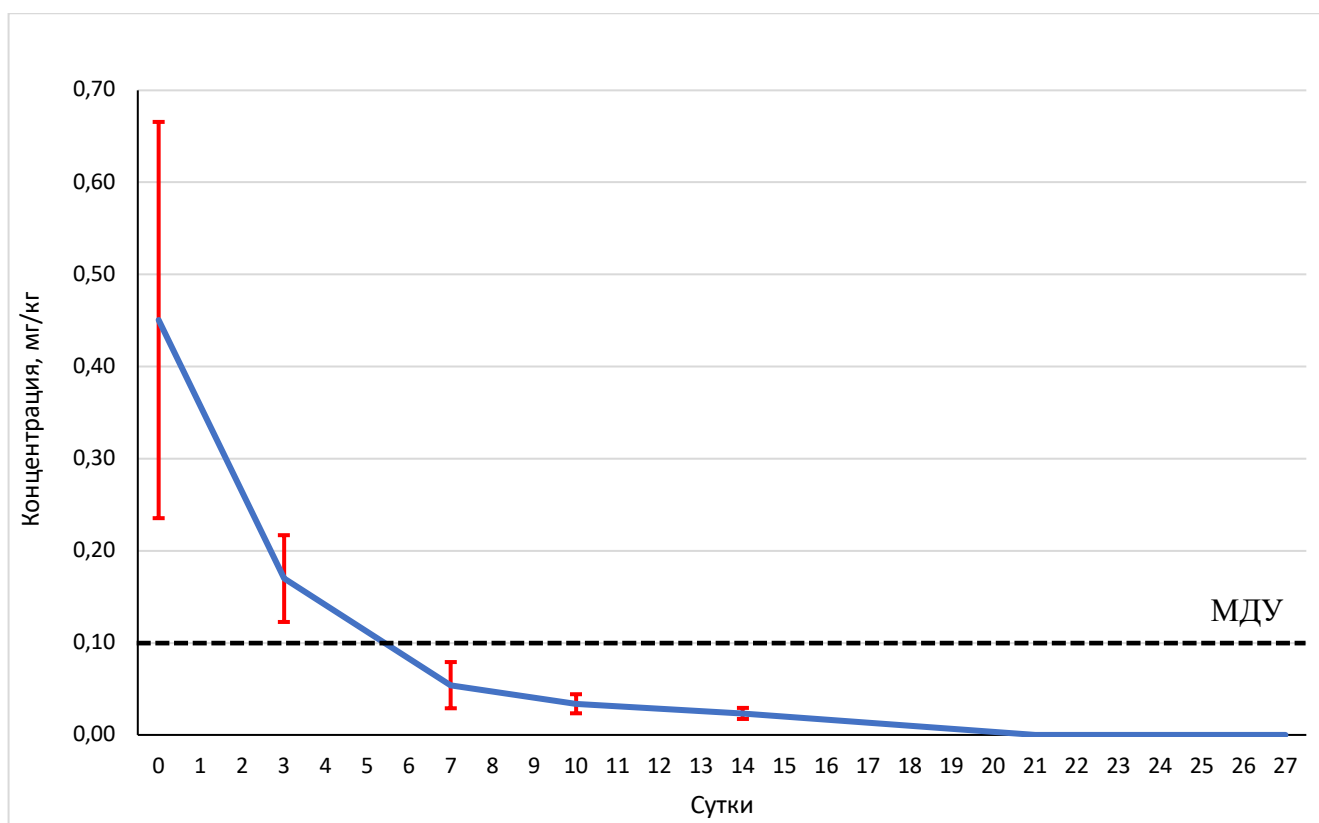


Рисунок 15 – Динамика деградации бифентрина при обработке посевов рапса инсектицидом в норме 1,2 л/га в условиях сезона 2022 года

Сравнительный анализ динамик деградации бифентрина в данном эксперименте с результатами применения препарата 0,6 л/га указывает на определенную идентичность протекания процесса разложения, исходя из конфигурации графиков. Из этого следует, что сама по себе скорость деградации действующего вещества существенно не зависит от начальной концентрации, данное предположение далее будет подтверждено расчетами периодов полураспада.

Что касается динамики деградации хлорпирифоса (рисунок 16, 17) при применении инсектицида в двойной норме, полученные в этом эксперименте материалы опять же подтверждают более быстрое его разложение даже на фоне 5 кратно большей концентрации в день обработки относительно бифентрина (приложение 1-4). То есть можно констатировать, что из двух д.в. разложение у представителя фосфорорганических соединений в любых условиях происходит намного быстрее.

Изменение нормы применения в сторону увеличения практически не повлияло на скорость распада д.в. инсектицида и в целом можно рассматривать снижение содержания его компонентов в растениях рапса до нуля уже к 21 суткам, что отчетливо видно на представленных графиках.

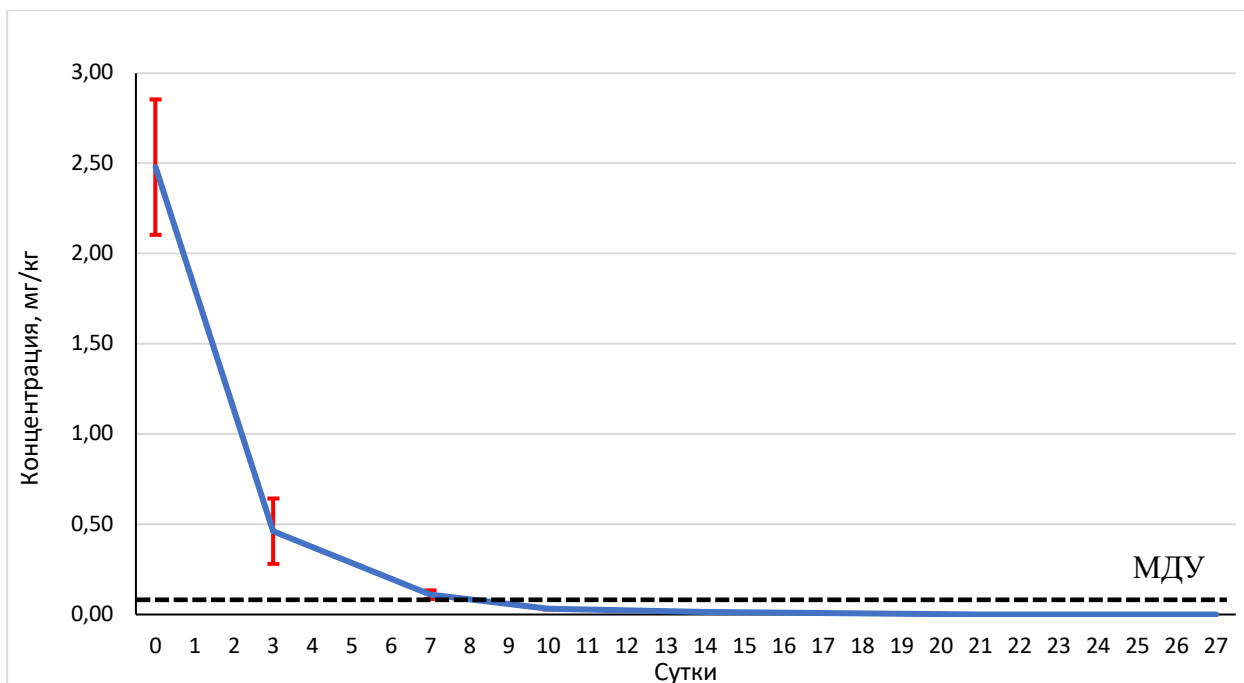


Рисунок 16 – Динамика деградации хлорпирифоса при обработке посевов рапса инсектицидом в норме 1,2 л/га в условиях сезона 2021 года

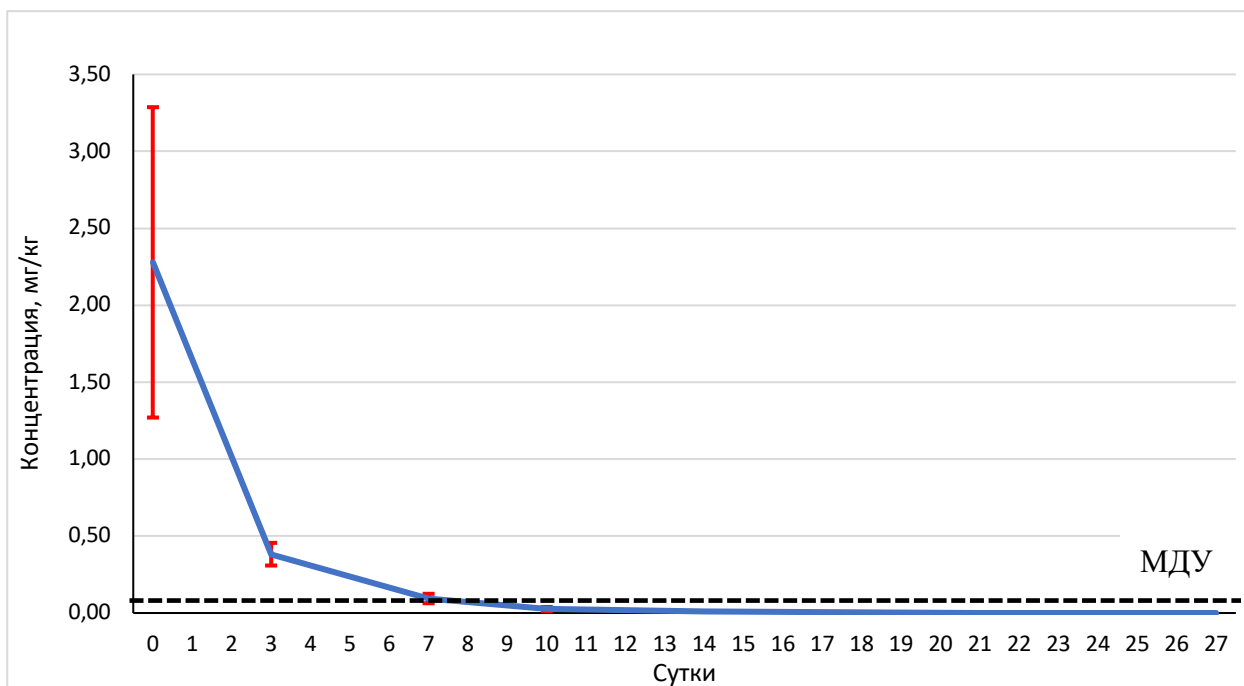


Рисунок 17 – Динамика деградации хлорпирифоса при обработке посевов рапса инсектицидом в норме 1,2 л/га в условиях сезона 2022 года

Полученный экспериментально период всецело согласуется со сроком ожидания в 30 дней, заявленным производителем препарата. Далее, после его завершения, присутствие остаточных количеств инсектицида не зафиксировано ни в одной из проб урожая рапса и полученного из него масла.

4.4 Содержание остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина в растениях рапса при двухкратной обработке

Фитосанитарная обстановка на посевах масличных культур, и в первую очередь рапса, часто формируется таким образом, что для гарантированного предупреждения потерь урожая недостаточно одной, а иногда и даже двух инсектицидных обработок. При этом с точки зрения безопасности не только для урожая, но и для полезных насекомых применение средств борьбы с вредителями в период завершения цветения и последующих за этим этапах развития культуры является проблемным.

В системе защиты рапса ярового от вредных насекомых постоянным приемом является защита всходов от крестоцветных блошек. Далее, практически всегда предполагается обработка инсектицидом в начале фазы бутонизации, целевыми объектами в данном случае выступают рапсовый цветоед и крестоцветная моль, но воздействию подвергаются еще и рапсовый листоед, капустная тля, рапсовый пилильщик и семенной скрытнохоботник. В крайне сложных же ситуациях просто не обойтись без еще одного применения инсектицидов.

Учитывая этот факт, для изучения последствий, в полевом эксперименте сезона 2022 года дополнительно была задействована двойная обработка в период вегетации тем же комбинированным препаратом Фосорган Дуо, КЭ в соответствии с разработанными для него регламентами (0,6 л/га). Интервал между обработками составлял 14 дней, отбор проб производился с момента первой обработки и до уборки урожая.

В результате установлено, что в целом применение данного инсектицида вполне приемлемо из соображения безопасности для окружающей среды и получаемого

после этого урожая. Как следует из динамики деградации содержащихся в нем действующих веществ их концентрация в растениях составляла безопасный уровень (ниже МДУ) уже через трое суток для бифентрина и семь для хлорпирифоса после обработки (рисунок 18, 19).

Согласно представленным материалам в первые дни после второй обработки отмечено ускорение в сравнении с первым сроком падение концентраций причем и бифентрина, и хлорпирифоса. После этого момента содержание первого д.в. стабилизировалось и сохранялось на уровнях близких к 0,06 мг/кг растительной массы в течение недели (приложение 5), второго – продолжало и довольно активно падать.

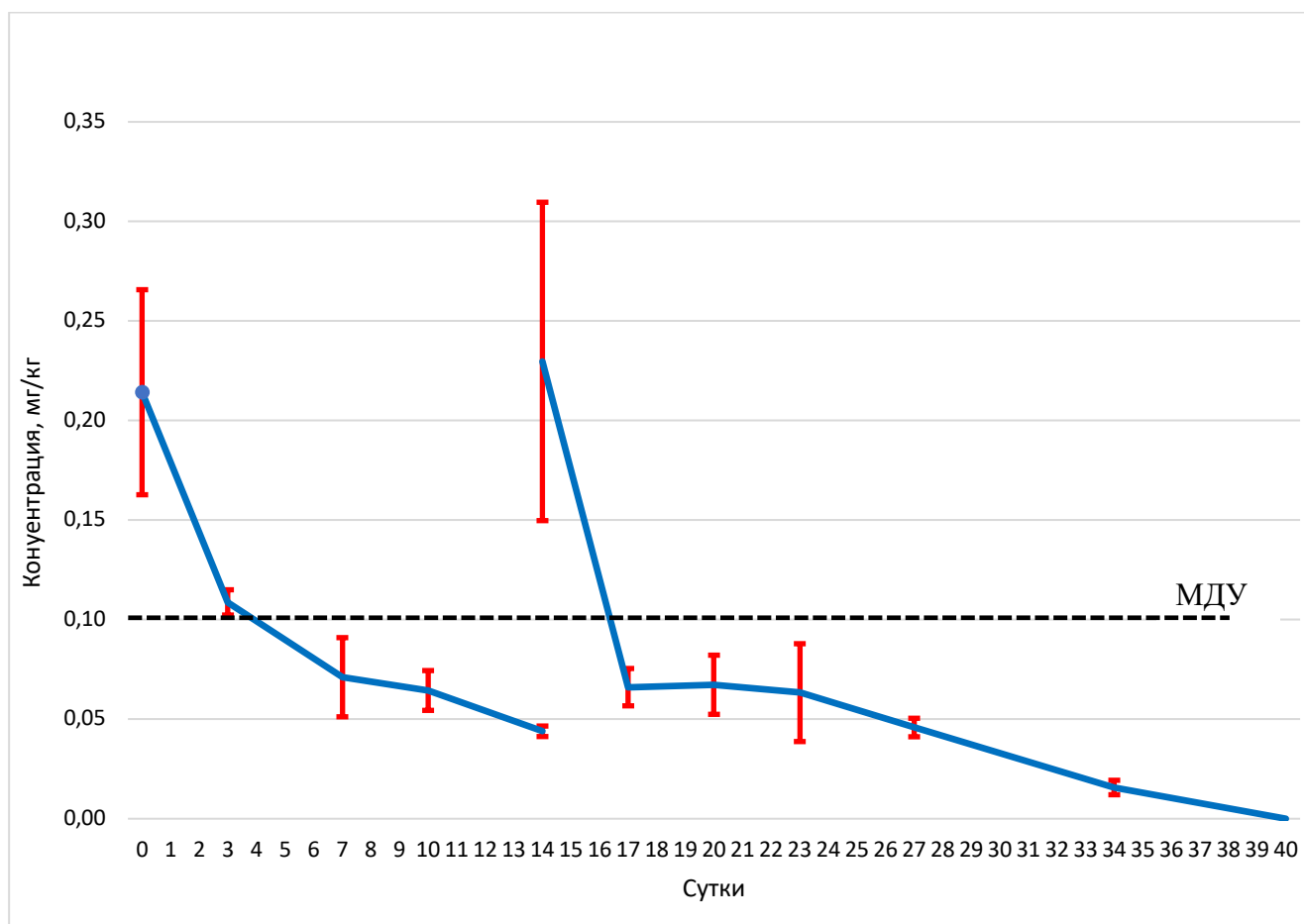


Рисунок 18 – Динамика деградации бифентрина при двукратной обработке посевов рапса

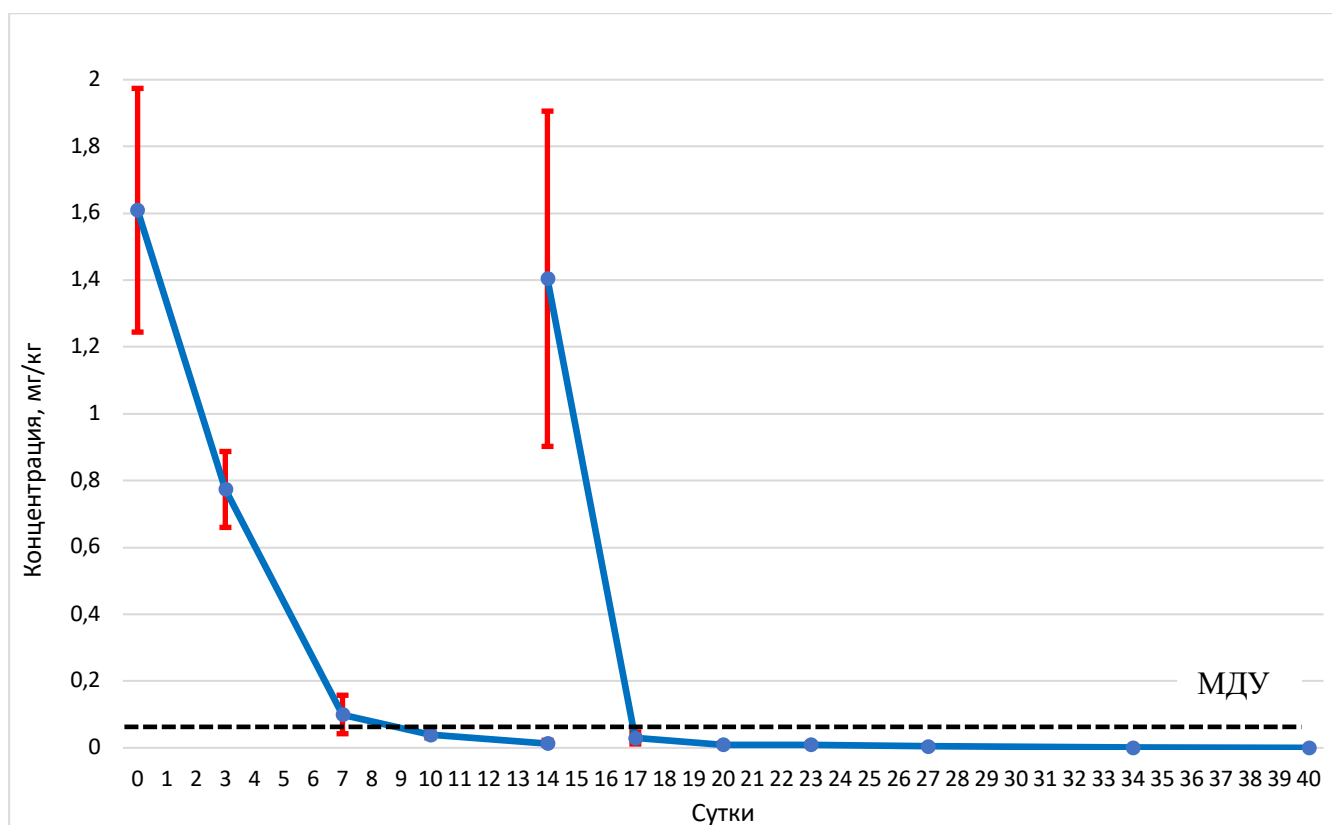


Рисунок 19 – Динамика деградации хлорпирифоса при двукратной обработке посевов рапса

Причем все это происходило на фоне того, что показатели содержания в нулевых пробах после каждой обработки и даже с учетом стандартных отклонений вполне соизмеримы. В итоге в период созревания культуры в ее растениях присутствовали только остатки бифентрина в среднем около 0,015 мг/кг.

Дальнейшие исследования образцов урожая рапса ярового и полученного из них масла однозначно указывают на отсутствие в них остаточных количеств обоих действующих веществ, а соответственно и безопасность полученной продукции даже не смотря на более позднюю обработку растения тестируемым инсектицидом. Отсюда можно предположить, что применение для повторной обработки посевов рапса ярового других инсектицидов, содержащих одно или оба из изученных д.в. и что важно, разрешенных к применению на культуре в РФ будет безопасным. Срок ожидания до сбора урожая даже при обработке после завершения цветения у культуры вполне укладывается в 30 суток и согласуется с нормативами санитарно-гигиенических требований.

Все представленные результаты выступают практическими подтверждениями работоспособности и эффективности предлагаемого метода. Далее, для продолжения рассмотрения и более детального анализа динамик деградации действующих веществ был необходим определённый параметр, упрощающий и одновременно увеличивающий точность исследования представленных результатов.

Используя в расчетах весь комплекс данных, полученных в ходе анализов, были установлены периоды полураспада бифентрина и хлорпирифоса в растениях рапса ярового. На наш взгляд они должны послужить повышению точности оценки при сравнении динамик деградации этих действующих веществ. Расчеты производились на основе рекомендаций EFED (Environmental Fate and Effects Division) и PMRA (Canada's Pesticide Management Regulatory Authority) в программе R 3.1.1. с установленным расширением PestDF. Пример расчета периодов полураспада представлен на рисунке 20.

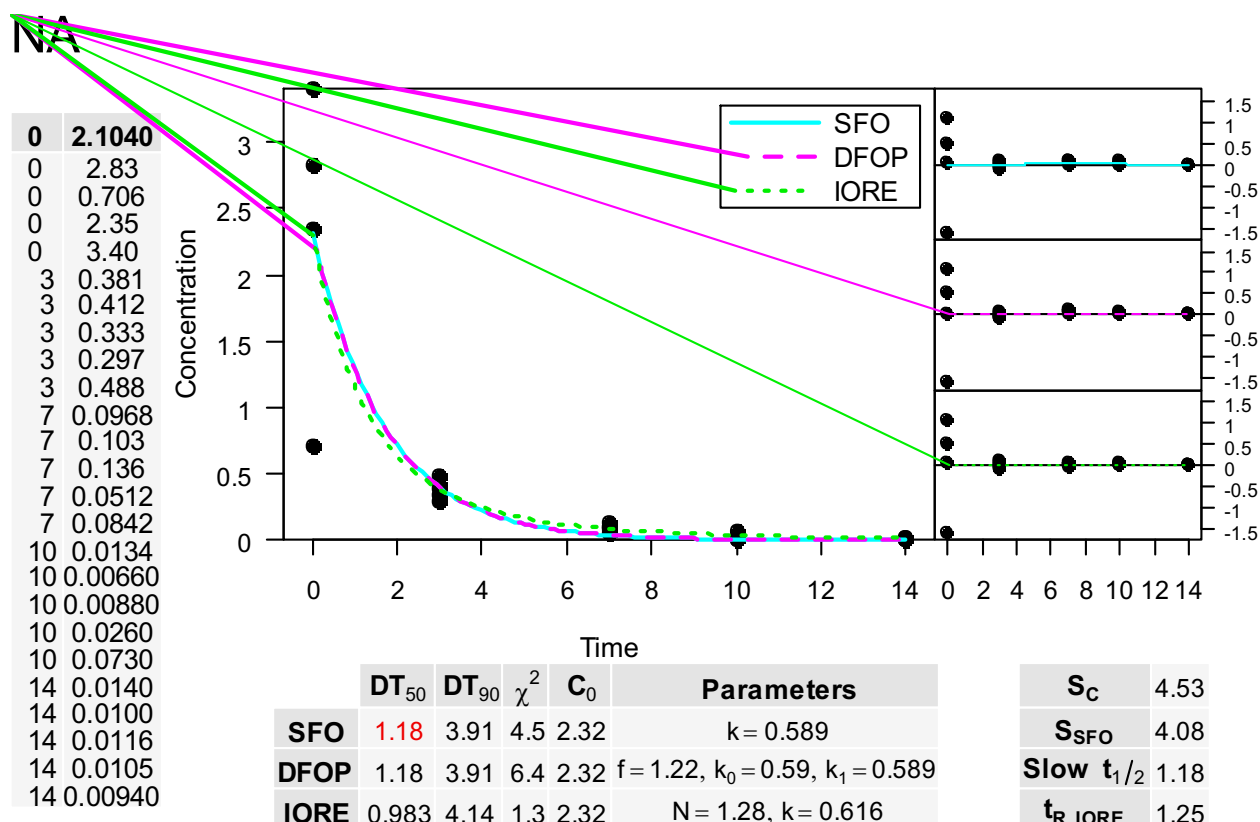


Рисунок 20 – Расчет периода полураспада хлорпирифоса

При внесении результатов эксперимента в консоль программного обеспечения R 3.1.1, автоматически строится функция и производится аппроксимация. Программа, как можно видеть, рассчитывает показатели по трем математическим моделям, скорость разложения пестицидов обычно описывается с использованием кинетики первого порядка (SFO), что подтверждается выделением красным цветом, такая модель весьма удобна, поскольку скорость суммируется только с параметром k (константа скорости). Все результаты расчетов периодов полураспада и 90%-ного распада, представленные в таблице 12, рассчитаны в соответствии с моделью SFO.

Таблица 12 – Периоды полураспада хлорпирифоса и бифентрина в растениях рапса ярового

Год	Название вещества	Норма применения, л/га	DT ₅₀ , суток	DT ₉₀ , суток	Коэффициент Пирсона, χ^2
2021	Хлорпирифос	0,6	0,99	3,29	4,9
		1,2	1,23	3,55	5,4
	Бифентрин	0,6	1,53	19,6	5,1
		1,2	1,77	17,6	5,8
2022	Хлорпирифос	0,6	1,24	4,14	2,4
		1,2	1,18	3,91	4,5
	Бифентрин	0,6	2,81	12,10	5,3
		1,2	2,25	7,49	6,3

В целом, периоды полураспада хлорпирифоса имеют схожие значения, вне зависимости от начальной концентрации. Установлено, что хлорпирифос в рапсе разлагается на половину, в среднем, за чуть более чем одни сутки (1,16 суток), на 90 % - почти за 4 дня (3,73 суток), значение остаточного количества действующего вещества определяется ниже МДУ уже на 10 сутки.

Анализируя показатели полураспада бифентрина, можно в очередной раз убедиться в сложности прогнозирования сроков полного разложения несистемных

пестицидов. Как уже было указано, пиретроиды деградируют путем влияния на них абиотических (фотолитических и гидролитических) факторов. Результаты полу- и 90 % распада помогли более точно сравнить динамики деградации интересующих нас действующих веществ инсектицидов и помимо всего прочего, подтвердили существование влияния на процесс деградации метеоусловий, которые определенно отличались по сезонам (таблица 12).

В частности, среднесуточная температура была явно выше в вегетационный сезон 2021 года. На этом фоне за весь период отбора проб количество атмосферных осадков здесь было более чем на 35% меньше. Есть очевидная разница и в их распределении. Так превазирование в выпадении осадков в первый год в основном приходилось на 8-й (22,2 мм) и 21-й (30,7 мм) день проведения экспериментов, а в 2022 году основная их масса зафиксирована причем с ежедневным наличием в период с 5-го по 10-й дни после обработки и в итоге их объём составил 73,6 мм.

Фактически получается, что в первое время после применения препарата интенсивность разложения бифентрина, исходя из представленных величин периода полураспада, может изменяться до двух раз. На этом этапе подобное сокращение величины показателя в 2021 году предположительно было сопряжено с наличием высокой температуры непрерывно в течение нескольких дней. В условиях следующего сезона, опираясь на установленные величины DT_{90} , процесс разложения данного д.в. ускорился в условиях ежедневного выпадения осадков, а временами и с ливневым характером.

В результате величины полу- и 90 %- ого распада бифентрина выглядят весьма изменчивыми и отсюда сроки его полного разложения будут менее прогнозируемыми, чем показатели деградации хлорпирифоса, которые практически не зависели от складывающихся погодных условий.

ГЛАВА 5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ИНСЕКТИЦИДОВ В ИМАГО МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ

Обработки посевов или посадок любой полевой культуры постоянно сопряжены с воздействием на весь агроценоз. Чаще всего негативное влияние инсектицидов помимо целевых объектов проявляется и на полезных насекомых, особое место среди которых занимают опылители.

В рамках защиты масличных культур от вредных насекомых факт такого взаимодействия однозначно затрагивает имаго медоносной пчелы, поскольку они массово контактируют с обработанными растениями. При этом довольно часто возникают тупиковые ситуации в плане выявления и обоснования причин гибели пчелосемей.

Завершающий этап работы как раз и был направлен на валидацию с последующей апробацией оригинального метода совместного определения остаточных количеств действующих веществ инсектицидов на материале, состоящем из имаго погибших пчёл.

5.1 Аспекты разработки метода определения хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в имаго медоносной пчелы

Имаго медоносной пчелы с точки зрения аналитической химии является достаточно сложным объектом исследования. При разработке метода обнаружения остаточных количеств действующих веществ инсектицидов в пчёлах оказалось необходимым формирование подхода с более высокими требованиями к качеству пробоподготовки и точного установления диапазона определения концентраций предполагаемой для проведения анализов методики.

В начале исследования первым делом требовалось определить среднюю массу особи взрослой пчелы. В зависимости от обстоятельств, анализ этого объекта на наличие остатков действующих веществ инсектицидов возможно производить как из естественным путем высушенных, так и из недавно погибших или

замороженных имаго. В целях достижения максимально возможной полноты результатов в изучение были включены два варианта.

Из результатов измерений следует, что в среднем масса опытных насекомых в свежем виде составляла $80,38 \pm 5,92$ мг, а после высушивания уменьшалась до $29,41 \pm 2,62$ мг. Первое, что следует из полученных данных, это тот факт, что содержание влаги в теле пчелы в среднем может составлять более 60%, то есть сухие взрослые пчелы практически в 3 раза легче. Из этого следует, что при исследовании равных навесок, сухих особей нужно значительно больше, чем свежемороженых.

Необходимые для осуществления экспериментов и последующих расчетов полуметальные дозы (ЛД₅₀) для каждого из трех исследуемых д.в. (хлорпирифос, бифентрин и циперметрин), были выбраны на основании работы Lewis et al. (2016).

На их основе и в соответствии с нормами применения были рассчитаны соответствующие каждому компоненту коэффициенты опасности (таблица 13).

Таблица 13 – Характеристики и показатели токсичности инсектицидов для имаго медоносной пчелы

Действующее вещество	ЛД ₅₀ кишечная, мкг/особь (Lewis et al., 2016)	ЛД ₅₀ контактная, мкг/особь (Lewis et al., 2016)	Норма применения, г/га	Коэффициент опасности
Хлорпирифос	0,15	0,068	480	7059
Бифентрин	0,1	0,015	40	2666
Циперметрин	0,17	0,02	80	4000

Согласно полученным результатам расчетов, оба вещества из класса пиретроидов при преимущественно меньших значениях ЛД₅₀ относительно хлорпирифоса, обладают и значительно более низкими коэффициентами опасности. Несомненно, здесь имеют значение и небольшие, особенно по бифентрину, нормы применения. Несмотря на это, все исследуемые инсектицидные вещества безусловно следует рассматривать в статусе высокотоксичных для пчел.

Основываясь на выбранных из литературных источников показателях ЛД₅₀ при контактном действии для хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина, а также установив среднюю массу высушенной и свежемороженой пчелы, для дальнейшей работы по ряду показателей был установлен ориентировочный диапазон их определения (таблица 14).

Таблица 14 – Базовые условия и исходные показатели для создания методики

Действующее вещество	Количество особей в навеске, шт	ЛД ₅₀ контактная, мкг/особь	Концентрация в навеске, мкг	Понижающий коэффициент
сухие особи				
Хлорпирифос	34	0,070	2,380	5
Бифентрин	34	0,002	0,068	2
Циперметрин	34	0,020	0,680	5
свежемороженые особи				
Хлорпирифос	25	0,070	1,750	3
Бифентрин	25	0,002	0,050	1,5
Циперметрин	25	0,020	0,500	3

Учитывая результаты произведенных расчетов в отношении понижающего коэффициента и опираясь на опыт реализации предшествующих изысканий по определению хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина, было принято решение понизить минимально определяемую концентрацию действующих веществ. Во-первых, это позволит поднять точность разрабатываемой методики, а во-вторых, сможет помочь в предстоящих далее исследованиях динамики деградации указанных д.в. в имаго пчелы.

В основу пробоподготовки разрабатываемого метода, как с масличными культурами, лег подход QuEChERS. При этом было опробовано несколько различных вариантов экстракции и очистки проб из пчел, во всех опытах использовались одинаковые усредненные навески измельченных особей медоносной пчелы в десятикратной повторности. Подробное содержание опытов отражено в материалах таблицы 15.

Таблица 15 – Варианты схем экстракции и очистки проб из имаго медоносной пчелы

Опыт №	Экстракция	Очистка
1	Навеска измельченных пчёл + смесь из 4 г безводного MgSO ₄ 1 г NaCl, 1,5 г цитратного буфера + 5 мл воды + 10 мл ацетонитрила.	6 мл экстракта + 900 мг безводного MgSO ₄ + 150 мг PSA
2	Навеска измельченных пчёл + смесь из 4 г безводного MgSO ₄ 1 г NaCl, 1,5 г цитратного буфера + 5 мл воды + 10 мл ацетонитрила, замораживание экстракта при -18°C в течение 10 часов.	6 мл экстракта + 900 мг безводного MgSO ₄ + 150 мг PSA
3	Навеска измельченных пчёл + смесь из 4 г безводного MgSO ₄ 1 г NaCl, 1,5 г цитратного буфера + 5 мл воды + 10 мл ацетонитрила.	6 мл экстракта + 900 мг безводного MgSO ₄ + 150 мг PSA + 150 мг сорбента C18E
4	Навеска измельченных пчёл + смесь из 4 г безводного MgSO ₄ 1 г NaCl, 1,5 г цитратного буфера + 5 мл воды + 10 мл ацетонитрила, замораживание экстракта при -18°C в течение 10 часов.	6 мл экстракта + 900 мг безводного MgSO ₄ + 150 мг PSA + 150 мг сорбента C18E
5	Навеска измельченных пчёл + смесь из 4 г безводного MgSO ₄ 1 г NaCl, 1,5 г цитратного буфера + 3 мл гексана + 5 мл воды + 10 мл ацетонитрила.	6 мл экстракта + 900 мг безводного MgSO ₄ + 150 мг PSA + 150 мг сорбента C18E

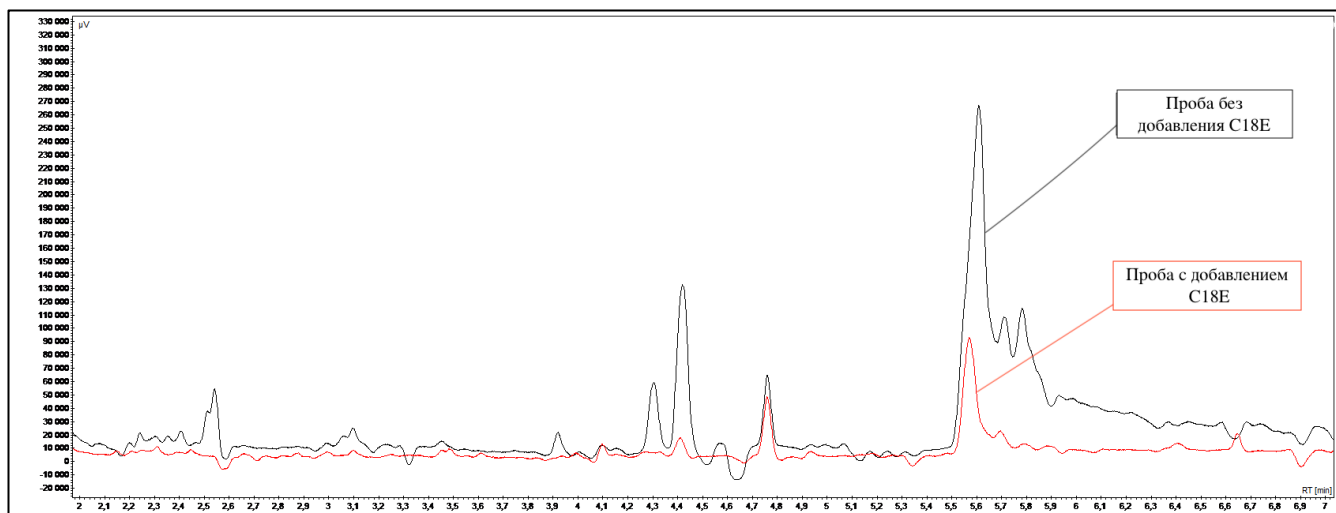
Используемый ранее режим работы применить в данном случае не представлялось возможным и поэтому по некоторым позициям условия хроматографирования претерпели изменения. Рабочая схема здесь содержала колонку кварцевую капиллярную 30м x 0,32мм с неподвижной неполярной фазой 5% фенил – 95% диметилполисилоксана RTX-5 (0,25 мкм); температура термостата колонки в режиме программирования была от 180⁰С (2 мин) до 280⁰С (8,2 мин) со скоростью 15 град./мин.; температура испарителя - 250⁰С; детектора - 350⁰С; поток поддувочного газа 25 мл/мин; газ-носитель - азот; поток газа-носителя в колонке 2,30 мл/мин. (в режиме постоянного потока); деление потока 1:20; хроматографируемый объем 1 мкл.

Конкретно условия хроматографирования от аналогичных показателей в методике определения остаточных количеств в растениях масличных культур

отличались увеличением времени анализа с целью получения более отчетливых сигналов и минимизации эффекта «слияния пиков». С этой же целью был изменен и температурный режим хроматографирования, и, прежде всего, была уменьшена скорость набора градиента температуры с 25 до 15 град/мин.

5.2 Подбор технологических приемов для очистки экстракта

Согласно литературным источникам, ранее отмеченным в работе, анализируемые пробы с повышенным содержанием жиров и восков предлагается очищать с помощью добавления эндкепированного октадецил-силикагеля C18E. Эффективность данного приема относительно стандартной очистки с помощью смеси безводного сульфата магния и сорбента PSA была подтверждена в процессе проведения ряда тестирований на газовом хроматографе. Элементом доказательной базы здесь могут выступить различия в профилях полученных хроматограмм, отображающих результаты анализов по двум протестированным вариантам (рисунок 21).



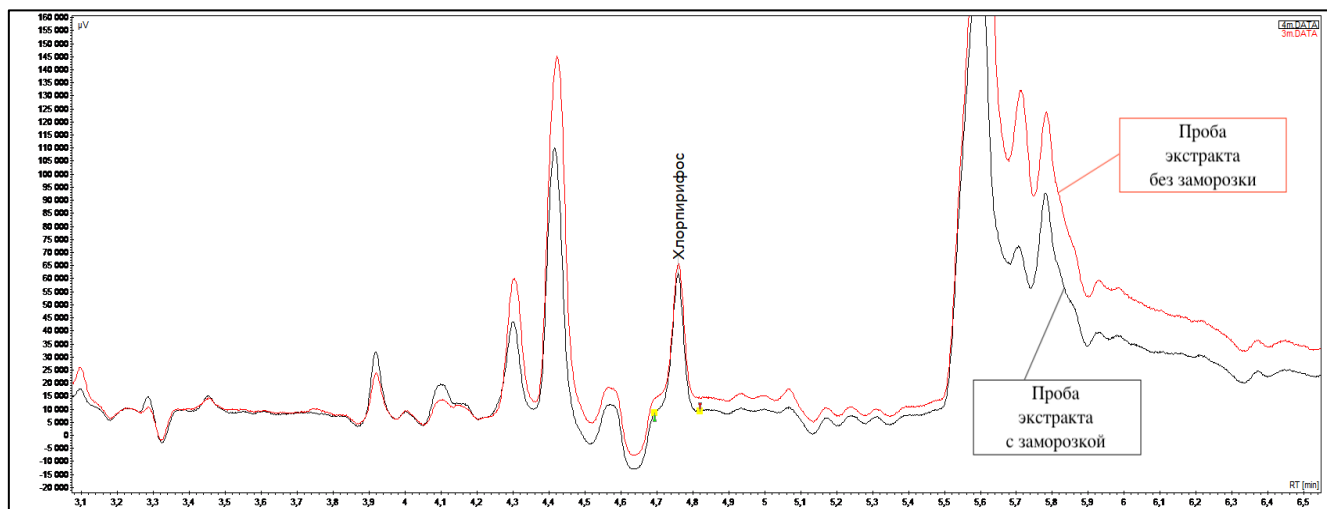
Примечание: шкала абсцисс – время, мин, шкала ординат – сигнал, мкВ.

Рисунок 21 – Хроматографические профили экстрактов из имаго пчелы с и без добавления сорбента

Анализируя полученные хроматограммы экстрактов пчёл с разным подходом к очистке, нельзя не отметить значительно более ровный фон при использовании сорбента C18E. Сигналы примесей имеют значительно меньшую площадь,

некоторых соединений пробы не обнаруживается совсем. Из чего можно сделать вывод, что при анализе имаго медоносных пчёл на стадии отчистки сорбентами необходимо использовать именно смесь безводного сульфата магния с PSA и C18E.

В добавление к данному набору реагентов, было принято решение изучить влияние на очистку отрицательных температур. Метод CIPS, описанный ранее, в основном применяется на стадии экстракции жиро- и воск содержащих объектов без добавления каких-либо сорбентов. Однако в случае с пчелами индивидуальное применение данного подхода не представляется возможным в связи с повышенным содержанием различных веществ, квалифицируемых как «загрязнители». В процессе разработки метода одновременного определения хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в имаго пчелы было опробовано сочетание метода CIPS с использованием насыпных сорбентов, обозначенных в предыдущем разделе.



Примечание: шкала абсцисс – время, мин, шкала ординат – сигнал, мкВ.

Рисунок 22 – Результаты анализа экстрактов из имаго пчелы при применении заморозки

Результаты оценки эффективности выбранной комбинации (рисунок 22) показали, что интенсивность сигналов от загрязнителей после использования вымораживания ниже, чем без такового в среднем примерно на 20 %. В то же время можно утверждать, что степень извлечения целевого вещества увеличивается. Так конкретно в отношении хлорпирифоса значения повысились с 77,5% до 85%, то есть изменение площади сигнала составило более 10%. Эффект от применения

вымораживания не столь явно выражен, как от добавления сорбента C18E, однако в совокупности такой подход дает существенное повышение значений как в степени извлечения д.в., так и в чистоте пробы. В свою очередь все это благоприятно сказывается на рабочем ресурсе аналитического оборудования, что в современных условиях дефицита такового является существенным фактором для любой лаборатории.

Следующим задействованным в экспериментах приемом выступило добавление в экстракт гексана. Расчет был на то, что хлорпирифос, бифентрин и циперметрин являются полярными соединениями, и отсюда их растворимость в полярных растворителях выше, чем в неполярных. Жиры же и воски обладают прямо противоположными свойствами. Соответственно добавление неполярного растворителя на стадии экстракции, в нашем случае гексана, должно приводить к перераспределению растворенных в полярном ацетонитриле и жиров, и восков в слой неполярного гексана. На основании этого был спланирован и проведен эксперимент, когда в центрифужную пробирку к измельченной навеске из пчел последовательно вносили 10 мл ацетонитрила, 5 мл воды и смесь экстракционных солей с цитратным буфером с последующим активным перемешиванием пробирки с целью предотвращения комкования сорбента. После проведенной процедуры было добавлено 3 мл гексана и перемешивание снова возобновлялось. Далее полученный экстракт очищали с использованием вымораживания и добавлением сорбента C18E. При сопоставлении центрифужных пробирок с промежуточными экстрактами, то есть до момента очистки, один из которых содержит гексан, даже на основании визуальной оценки можно утверждать о присутствии отличий (рисунок 23).

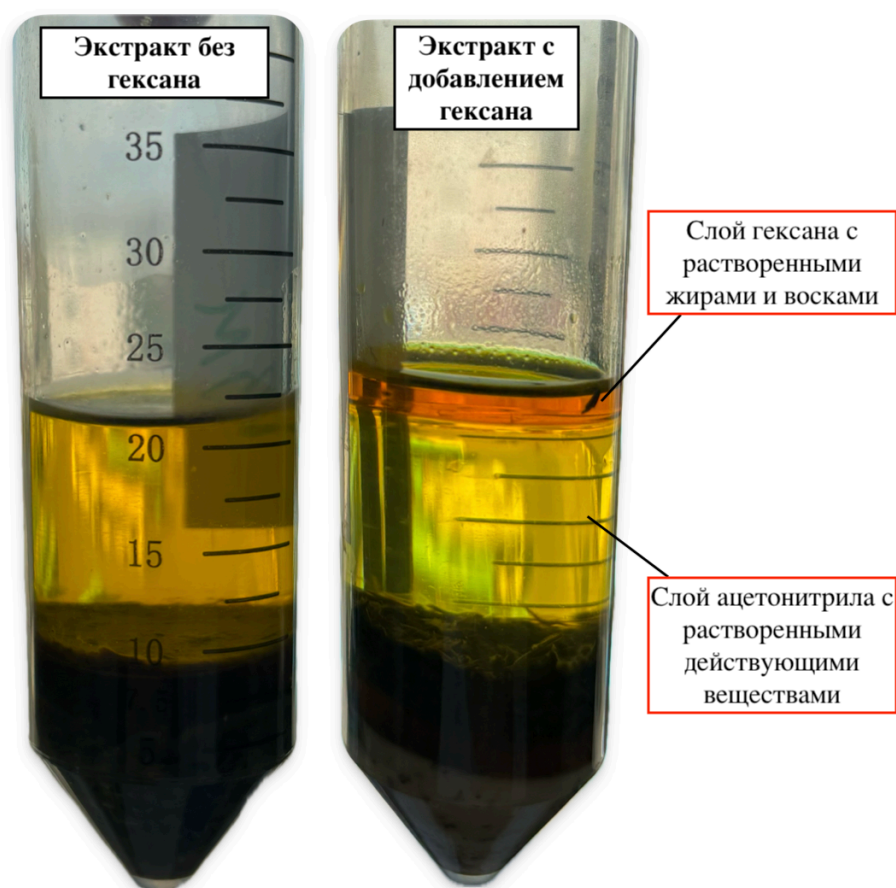
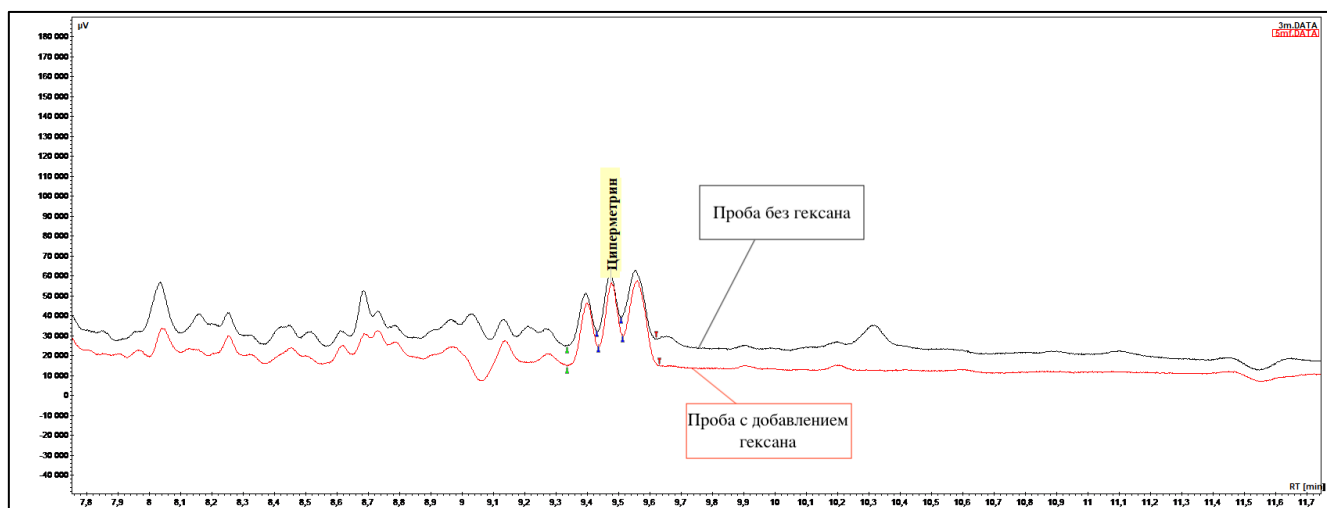


Рисунок 23 –Экстракты из имаго пчёл до проведения очистки

На рисунке четко видна граница раздела фаз несмешивающихся между собой гексана и ацетонитрила. Исходя из более темного оттенка слоя гексана можно предположить, что этот неполярный растворитель действительно обеспечивает перераспределение определенного процента загрязнителей пробы, содержащих жирные и воскоподобные вещества. Последующие действия заключались в отборе ацетонитрильного слоя пипеточным дозатором, носик которого аккуратно погружали сквозь слой гексана, и проведении анализа данного экстракта. При этом сравнение производилось с уже очищенными экстрактами. Полученные результаты позволяют утверждать, что профиль хроматограммы пробы с содержанием гексана относительно более ровный, а некоторые сигналы, относящиеся к посторонним объектам, практически пропали (рисунок 24).



Примечание: шкала абсцисс – время, мин, шкала ординат – сигнал, мкВ.

Рисунок 24 – Результаты анализа экстракта при добавлении в него гексана

Увеличение площади строенных сигналов, относящихся к изомерам циперметрина, означает повышение степени извлечения действующих веществ, которое относительно показателей пробы без внесения гексана составляет не менее 30%.

Следует отметить, что данный эффект получен в условиях, когда проба, растворенная для анализа, была отфильтрована через шприцевой фильтр PTFE/L 0,22 μm с целью доочистки анализируемого раствора от твердых частиц потенциально возможного осадка.

5.3 Итоговый вариант метода определения остаточных количеств инсектицидов в имаго медоносной пчелы

Обобщение, сопоставление и последующий анализ результатов всего комплекса экспериментальных работ позволили в итоге создать метод совместного определения остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в имаго медоносной пчелы.

В конечном итоге разработанный метод выглядел следующим образом: измельченная навеска имаго пчёл, в случае работы с сухим материалом это 1 г, со свежемороженными особями – 2 г, помещается в центрифужную пробирку объемом 50 мл; далее необходимо добавить последовательно 10 мл ацетонитрила,

5 мл воды и смесь экстракционных солей, состоящую из 4 г безводного $MgSO_4$, 1 г $NaCl$ и 1,5 г цитратного буфера; содержание пробирки тщательно перемешивается с целью предупреждения комкования сорбентов и вносится 3 мл гексана; плотно закрытая пробирка помещается в перемешивающее устройство на 10 мин и затем следует центрифугирование в течение 10 мин при 4000 об./мин. На следующем этапе из ацетонитрильного слоя пипеточным дозатором отбирается 8 мл экстракта и переносится в пробирку объемом 15 мл. Пробы помещаются в морозильную камеру с температурой не выше $-18\text{ }^{\circ}C$ на 10–12 часов. После замораживания аккуратно, не допуская перемешивания пробы, отбирается 6 мл раствора и его помещают в такую же пробирку на 15 мл, куда добавляется смесь чистящих сорбентов в составе 900 мг безводного $MgSO_4$, 150 мг PSA и 150 мг C18E. Плотно закрытая пробирка идет на завершающий цикл перемешивания и центрифугирования при 4000 об./мин.

По завершении описанных процедур отбирается 2 мл очищенного ацетонитрильного экстракта, который подвергается испарению и новому перерастворению в 1 мл гексана, а затем фильтруется через шприцевой фильтр PTFE/L 0,22 μm и вводится в инжектор газового хроматографа. Условия самого хроматографирования уже были представлены ранее.

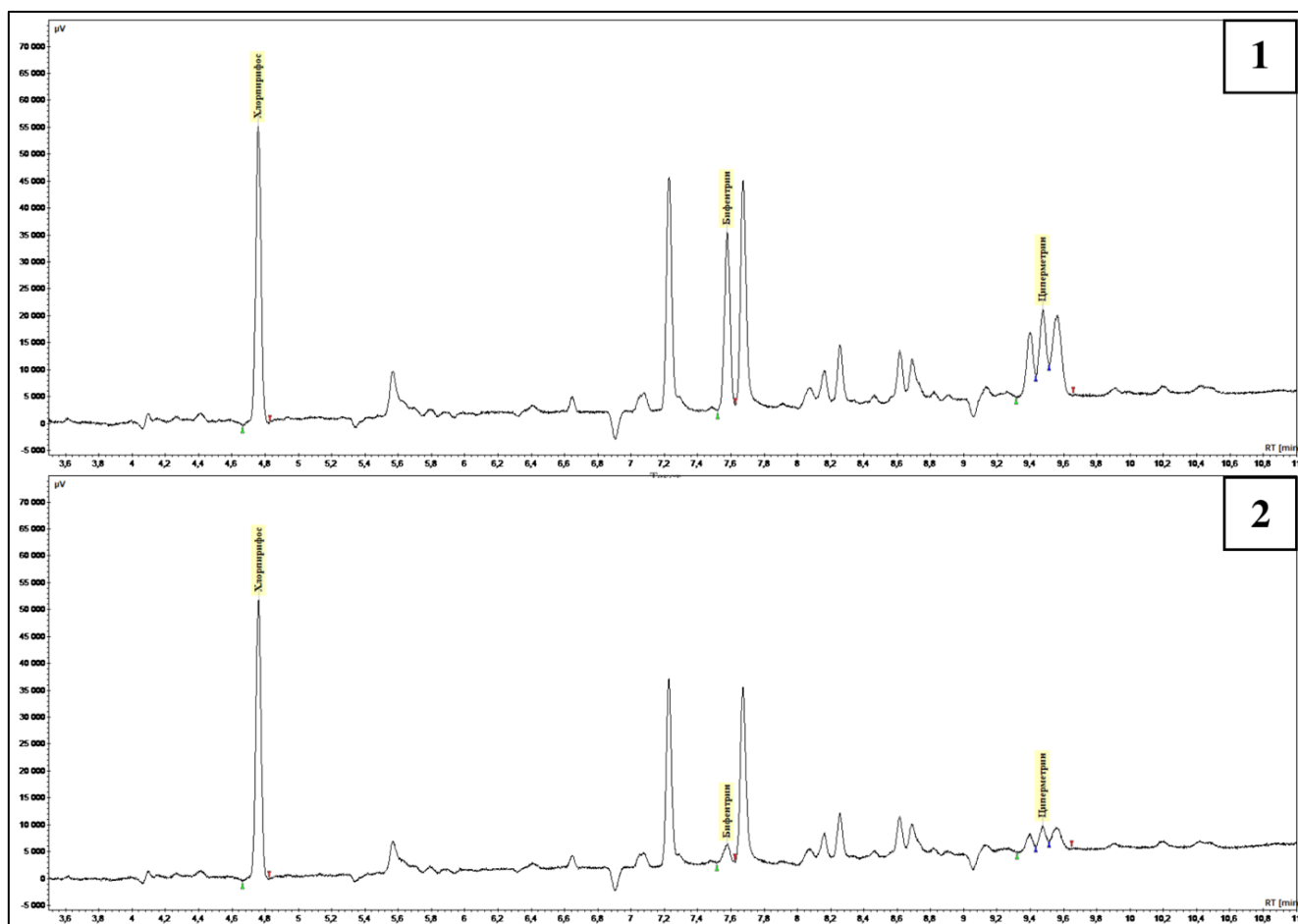
Завершением работ над методом определения остаточных количеств исследуемых действующих веществ в медоносных пчёлах следует считать проведение его внутрилабораторной валидации по верхнему и нижнему пределу определения. Число определений для каждого уровня внесения базировалось на пятикратных повторностях. В результате обобщения и анализа полученных результатов определены показатели полноты извлечения. Их количественные значения в общем по трем д.в. превышают уровень в 80%. В целом, важно отметить, что предлагаемая методика обеспечивает высокую степень идентификации и извлечения сразу трех, активно используемых в защите масличных культур, действующих веществ инсектицидного назначения и во всём диапазоне определяемых концентраций (таблица 16).

Таблица 16 – Параметры показателей для контроля остаточных количеств инсектицидов в имаго медоносной пчелы

Матрица (имаго пчелы)	Действующее вещество	Предел количественного определения, мкг/г	Диапазон определяемых концентраций, мкг/г	Среднее значение определения и доверительный интервал, %	Стандартное отклонение, S, %
Высушенные	Хлорпирифос	0,45	0,45 – 2,0	91,4 ± 1,2	2,5
	Бифентрин	0,03	0,03 – 0,3	80,7 ± 1,5	2,4
	Циперметрин	0,13	0,13 – 1,3	88,1 ± 2,3	3,7
Свеже-замороженные	Хлорпирифос	0,55	0,55 – 2,0	87,8 ± 1,7	2,8
	Бифентрин	0,03	0,03 – 0,3	79,7 ± 2,4	3,8
	Циперметрин	0,15	0,15 – 1,5	85,4 ± 1,4	2,2

При этом необходимо указать, что пределы определения хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина при использовании данной методики соответствуют до 5 раз меньшим значениям, чем имеющиеся для них на данный момент величины ЛД₅₀.

С целью проверки и подтверждения возможностей предлагаемой методики в пробы из измельченных свежемороженых пчёл были внесены аналитические стандарты, содержащие хлорпирифос, бифентрин и циперметрин, в соответствии с нормами применения, сопоставимыми с показателями токсичности инсектицидов (таблица 14) для этих насекомых. Результаты проведенных анализов, отраженные на хроматограммах (рисунок 25), позволяют точно идентифицировать сигналы от каждого из действующих веществ причем без каких-либо помех со стороны пробы.



Примечание: шкала абсцисс – время, мин, шкала ординат – сигнал, мкВ.

Рисунок 25 – Содержание хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в материале из имаго пчёл при искусственном внесении в пробы (1 – промежуточная концентрация, 2 – предел определения)

В итоге, основываясь на высоких численных показателях (таблица 16) и на содержащихся в полученных хроматограммах подтверждениях реализации цели исследований, разработку метода следует считать завершённой. При всем этом можно предположить дальнейшее развитие метода в направлении расширения перечня действующих веществ для совместного определения и валидации на других объектах исследования, таких как мёд и пчелиная перга.

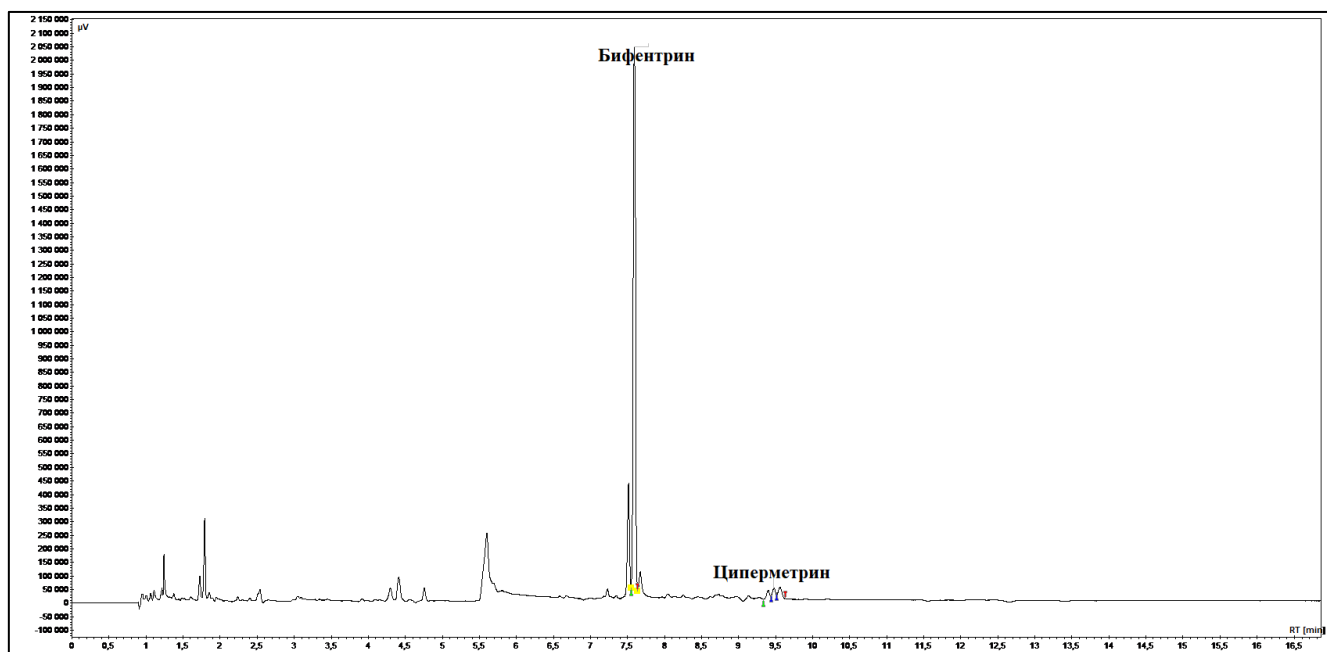
5.4 Применение метода определения остаточных количеств инсектицидов в имаго медоносной пчелы

Апробация разработанного метода совместного определения остаточных количеств д.в. инсектицидов в медоносных пчелах весьма сложный в организации процесс. Потребовалось бы создание прямого воздействия инсектицида на живых пчел, а возможно и целенаправленное нарушение регламентов его применения. Поэтому был избран подход, заключающийся в поиске материала из уже погибших насекомых по невыясненным или с подозрением на действие пестицидов причинам.

В результате в исследования были включены 4 образца мертвых насекомых, обнаруженных в летний период 2023 года на пасеках в двух районах (Рамонском и Россошанском) Воронежской области. Какая-либо достоверная информация о причинах гибели пчелиных семей или применении на ближайших сельхозугодьях инсектицидов отсутствовала. Материал хранился и поступил на исследования в замороженном виде.

Пробы из каждого образца подвергались подготовке и последующему анализу по уже отработанной оригинальной методике. Положительный результат в плане наличия действующих веществ инсектицидов из уже изученного нами набора был получен только в одном из образцов. Причем в насекомых присутствовало сразу два д.в. на что однозначно указывает содержание хроматограммы (рисунок 26).

Результаты анализа показывают, что причиной гибели пчёл однозначно выступает токсическое отравление. Исследованный образец содержал сразу два действующих вещества из класса пиретроидов: бифентрин и циперметрин. При этом после пересчета полученных данных установлено присутствие остаточных количеств бифентрина в пробе на уровне 1,2 мкг/особь, что примерно в 80 раз превышает принятую для этого д.в. ЛД₅₀. Количество циперметрина, в свою очередь, зафиксировано на уровне 0,22 мкг/особь, что в 11 раз выше летальной дозы.



Примечание: шкала абсцисс – время, мин, шкала ординат – сигнал, мкВ.

Рисунок 26 – Результаты анализа экстракта из погибших имаго медоносной пчелы

Таким образом, разработанный метод уже имеет своем арсенале практическое применение, тем самым подтвердив значимость и реализацию проекта. В дальнейшем его использование предполагает расширение спектра определяемых действующих веществ в имаго медоносной пчелы, что существенно расширит возможности применения методики.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Определено, что ассортимент инсектицидов, предназначенных для применения на масличных культурах непосредственно во время вегетации, содержит более 140 препаратов. При этом его модернизация идет постоянно и в том числе за счет средств, создаваемых на основе комбинаций действующих веществ из разных химических классов. К началу исследований в регистрации на подсолнечнике, сое и рапсе были широко задействованы препараты, содержащие как отдельно, так и в различных сочетаниях хлорпирифос, бифентрин и циперметрин. Биологическая эффективность препарата на основе изученных действующих веществ была на уровне не ниже 70% в отношении всех присутствующих в посевах рапса вредителей.

2. Разработан оригинальный метод совместного определения остаточных количеств хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина в зеленой массе, масле и семенах рапса ярового, обеспечивающий за счет использования на этапе экстракции растительных проб модифицированного подхода QuEChERS и подбора оптимальных хроматографических условий полноту извлечения всех трех действующих веществ на уровнях выше 77 %. Что удалось достичь именно объединением инновационного подхода к подготовке проб из зеленой массы, урожая и получаемого из него масла с базой классического аналитического метода.

3. Осуществлена валидация разработанного метода применительно к определению остаточных количеств, включенных в изучение действующих веществ в зеленой массе, урожае и масле подсолнечника и сои. Полнота извлечения по трем д.в. вполне сопоставима и составляет у хлорпирифоса 92,6 %, бифентрина – 85,4 % и циперметрина – 89,2 %.

4. Аргументирована высокая чувствительность разработанного метода к действующим веществам при анализах урожая масличных культур, что подтверждает универсальность разработанного метода. Метод успешно апробирован на образцах масличных культур, обработанных как препаратами на основе одного д.в. (Фаскорд, КЭ - 100 г/л альфа-циперметрина), так и

комбинированными (Пирелли, КЭ - 400 г/л хлорпирифоса + 20 г/л бифентрина и Фосорган Дуо - 500 г/л хлорпирифоса + 25 г/л бифентрина) инсектицидами.

5. Установлено и доказано экспериментально, что при использовании инсектицидов на основе циперметрина предлагаемый метод обеспечивает идентификацию и абсолютный контроль каждого из его изомеров.

6. Определены коэффициенты полураспада хлорпирифоса и бифентрина при применении содержащего их препарата (500 г/л + 25 г/л) для обработки посевов рапса ярового. Данный показатель по хлорпирифосу вне зависимости от нормы инсектицида составил около суток, по бифентрину его величина в разные сезоны изменялась в пределах от 1,5 до 2,5 суток. Период 90 % разложения бифентрина в условиях выпадения обильных осадков может сокращаться практически вдвое.

7. Разработанный метод усовершенствован для совместного анализа хлорпирифоса, бифентрина и циперметрина во взрослых особях медоносной пчелы. В результате чего расширена область применения метода с охватом контроля влияния указанных выше действующих веществ на полезных насекомых.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для разработки методов одновременного определения остаточных количеств комбинированных инсектицидов рекомендуется использовать усовершенствованный на этапе экстракции растительных проб процесс пробоподготовки, основанный на принципах подхода QuEChERS, в сочетании с подбором оптимальных хроматографических условий.

До официального утверждения Роспотребнадзором метод, позволяющий одновременно определять остаточные количества трех (хлорпирифоса, бифентрина, циперметрина) действующих веществ инсектицидного назначения в зеленой массе, урожае и масле рапса, подсолнечника и сои, а также в имаго медоносной пчелы, вполне может быть использован в научно-исследовательских целях.

При выборе методических указаний в рамках осуществления контроля остаточных количеств средств борьбы с вредными насекомыми на посевах масличных культур следует опираться на уже имеющую статус государственной базу «Данные по определению остаточных количеств инсектицидов при защите масличных культур» (Свидетельство о государственной регистрации № 2024623607 от 16.08.2024), которая предназначена для информационного обеспечения и практического руководства при анализе урожая конкретной группы культур и продуктов его переработки.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Лаптиеv, А. Б. Эффективность и безопасность пестицидов в защите подсолнечника от вредных организмов / А. Б. Лаптиеv, В. К. Мальцев // Агрoхимия. – 2023. – № 11. – С. 63–70. – DOI 10.31857/S0002188123110078.

2. Мальцев, В.К. Современный подход к определению остаточных количеств инсектицидов в урожае масличных культур / В.К. Мальцев, А.Б. Лаптиеv // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2024. – № 2(76). – С. 9–18. – DOI 10.24411/2078-1318-2024-2-9-18

В других изданиях:

1. Laptiev, A. B. Effectiveness and Safety of Pesticides in Protecting Sunflowers from Pests / A. B. Laptiev, V. K. Maltsev // Russian Agricultural Sciences. – 2023. – Vol. 49, N S1. – P. S134-S140. – DOI 10.3103/s1068367423070303.

Патенты и другая интеллектуальная собственность, имеющая государственную регистрацию:

1. Мальцев, В.К. Данные по определению остаточных количеств инсектицидов при защите масличных культур / В.К. Мальцев, А.Б. Лаптиеv, А.С. Зациорский // Свидетельство о регистрации базы данных 2024623607, 16.08.2024.

Публикации по материалам конференций:

1. Мальцев, В.К. Результаты определения остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина в растениях и урожае сои / В.К. Мальцев, А.Б. Лаптиеv // Защита растений от вредных организмов: Материалы XI международной научно-практической конференции, Краснодар, 19–23 июня 2023 года. Том Выпуск 11. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трублина, 2023. – С. 249–251.

2. Мальцев, В.К. Результаты определения остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина в растениях и урожае рапса / В.К. Мальцев, А. Б. Лаптиеv // Фундаментальные и прикладные аспекты продовольственной безопасности: Сборник материалов научных трудов VI Всероссийской научно-

практической конференции с международным участием, Большие Вяземы, 21–23 ноября 2023 года. – Москва: АНО «Центр научно-технических решений», 2023. – С. 292–293.

3. Лаптиеv, А.Б. Риски в защите растений, их содержание и координация / А.Б. Лаптиеv, В.К. Мальцев // Фундаментальные и прикладные аспекты продовольственной безопасности : Сборник материалов научных трудов VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Большие Вяземы, 21–23 ноября 2023 года. – Москва: АНО «Центр научно-технических решений», 2023. – С. 285–287.

4. Лаптиеv, А.Б. Обоснование применения и контроль остатков инсектицидов при защите масличных культур / А.Б. Лаптиеv, В.К. Мальцев // V Всероссийский конгресс по защите растений: Сборник тезисов докладов посвящается 300-летию Российской академии наук, Санкт-Петербург, 16–19 апреля 2024 года. – Санкт-Петербург: Всероссийский институт защиты растений, 2024. – С. 166.

5. Лаптиеv, А.Б. Контроль остаточных количеств инсектицидов в имаго медоносной пчелы / А.Б. Лаптиеv, В.К. Мальцев // Материалы Международной научно-практической конференции «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем, Краснодар, 17-19 сентября 2024 года. – Краснодар: «ЭДВИ», 2024. – С. 216–219.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеев, Е. Ю. Хроматографическое определение остаточных количеств дифлубензурана в сельскохозяйственных растительных матрицах / Е. Ю. Алексеев, Т. Д. Черменская // Журнал аналитической химии. – 2023. – Т. 78. – № 4. – С. 376–383.
- Амелин, В. Г. Дисперсионная жидкостно–жидкостная микроэкстракция и твердофазная экстракция при извлечении полярных пестицидов из природных вод и определении их методом мицеллярной электрокинетической хроматографии / В. Г. Амелин, Д. С. Большаков, А. В. Третьяков // Журнал аналитической химии. – 2013. – Т. 68. – № 5. – С. 430–430.
- Амелин, В. Г. Одновременное определение фунгицидов тирама и тебуканазола в зерне методами высокоэффективной жидкостной или мицеллярной электрокинетической хроматографии / В. Г. Амелин, Д. С. Большаков, Д. К. Лаврухин // Известия Саратовского университета. Новая серия. – 2013. – Т. 13. С. 7–11.
- Биологическая и хозяйственная эффективность инсектицидов против комплекса вредителей в посевах рапса ярового / Я. Э. Пилюк, Т. Н. Лукашевич, Е. П. Решетник [и др.] // Земледелие и селекция в Беларуси. – 2023. – № 59. – С. 146–154.
- Будникова, Н. В. Скорость деградации пестицидов в продуктах пчеловодства / Н. В. Будникова, Д. В. Митрофанов // Сборник научных трудов КНЦЗВ. – 2023. – Т. 12. – № 1 – С.128–131.
- Будревич, А. П. Контроль численности рапсового цветоеда и капустной моли в посевах ярового рапса двухкомпонентными инсектицидами / А. П. Будревич, И. В. Богомолова // Защита растений. – 2022. – № 43. – С. 234–238.
- Бушнев, А. С. Влияние комплекса агротехнических приемов на урожайные свойства семян F1 гибрида подсолнечника факел в потомстве (сообщение

- П) / А. С. Бушнев, А. К. Гриднев, Г. И. Орехов, // Масличные культуры. – 2021. – № 4 (188). – С. 53–60.
- Бушнев, А. С. Потенциал производства рапса озимого на юге России / А. С. Бушнев, Г. И. Орехов, Л. А. Горлова //Агрофорум. – 2020. – № 5. – С. 31–34.
- Бюллетень «Посевные площади Российской Федерации в 2024 году» / Федеральная служба государственной статистики (Росстат). – 2025. – URL: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Posev_2024.xlsx (дата обращения: 02.04.2025)
- Воловик, В. Т. Производство рапса в Центральной России: состояние и перспективы / В. Т. Воловик, А. С. Шпаков // Кормопроизводство. – 2020. – № 10. – С. 3–8.
- Галяутдинова, Г. Г. Токсический эффект пиретроидов на пчел / Г. Г. Галяутдинова, В. И. Босяков, В. И. Егоров // Состояние и перспективы развития среднерусской породы пчел. – 2018. – С. 79–83.
- Говоров, Д. Н. Применение пестицидов. Год 2023–й / Д. Н. Говоров, А. В. Живых, А. А. Шабельникова // Защита и карантин растений. – 2024. – № 4. – С. 9–10.
- Гончаров, С. В. Перспективы развития биодизеля в России / С. В. Гончаров, В. В. Карпачев // Масличные культуры. – 2021. – № 3 (187). – С. 71–77.
- Горбунов, М. Ю. Критерии эффективности инсектицидов в тактике и стратегии защиты ярового рапса от капустной моли / М. Ю Горбунов, С. А. Суслов, А. Н. Мрачковская // Евразийское Научное Объединение. – 2020. – № 6–6. – С. 488–490.
- ГОСТ 50779.22–2005 (ИСО 2602:1980). Статистические методы. Статистическое представление данных: издание официальное: утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 31 мая 2005 г. № 112-ст: дата введения 2005-07-01. Москва: Стандартинформ, 2005. – Текст: непосредственный.

- Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации: [сайт]. – 2021. – URL:<https://mcx.gov.ru/upload/iblock/e25/e256fcb3d581b45d495dec47d1548e55.zip> (дата обращения: 15.12.2024).
- Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации: [сайт]. – 2024. – URL:<https://mcx.gov.ru/upload/iblock/10c/39mlmf95fdel8kzdeyta3umlwb> и [bnsdc.zip](#) (дата обращения: 15.12.2024).
- Гущина, В. А. Влияние пестицидов на урожайность и качество маслосемян ярового рапса / В. А. Гущина, Н. Д. Агапкин, Е. В. Жеряков // Нива Поволжья. – 2008. – № 3. – С. 5–9.
- Диденко, А. О. Гибель пчел в России и мире: состояние проблемы / А. О. Диденко // АгроФорум. – 2020. – № 5. – С. 28–30.
- Динамика разложения пропамокарба гидрохлорида при применении препарата Превикура Энерджи на растениях томата / Л. М. Поддымкина, Г. Е. Ларина, А. В. Калинин, Х. Мохаммад // Земледелие. – 2019. – № 4. – С. 44–47.
- Дисперсионная жидкостно–жидкостная микроэкстракция органических соединений. Обзор обзоров / С. Г. Дмитриенко, В. В. Апяри, В. В. Толмачева, М. В. Горбунова // Журнал аналитической химии. – 2020. – Т. 75. – № 10. – С. 867–884.
- Долженко, В. И. Использование твердофазной экстракции и микроэкстракции в анализе пестицидов / В. И. Долженко, О. К. Остроухова, И. Г. Зинкевич // Агрохимия. – 2005. – № 1. – С. 74–87.
- Долженко, В. И. Становление и развитие НИР в системе биологической регламентации и государственной регистрации новых средств защиты растений / В. И. Долженко, К. В. Новожилов // Вестник защиты растений. – 2010. – № 3. – С. 16–29.
- Долженко, О. В. Новый комбинированный инсектицид для защиты картофеля / О. В. Долженко, О. А. Кривченко // Агробиотехнология – 2021 : Сборник статей международной научной конференции, Москва, 24–25 ноября 2021

- года. – Москва: Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, 2021. – С. 82–85.
- Доспехов, Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. – Москва: Агропромиздат, 1985. – Т. 351. – 351 с.
- Жемчужин, С. Г. Разработка и применение современных инсектицидов / С. Г. Жемчужин, И. Н. Яковлева, М. А. Куприянов // Агрехимия. – 2008. – № 11. – С. 20–28.
- Захаренко, В. А. Экономическая оценка фитосанитарных рисков в растениеводческих отраслях России / В. А. Захаренко // Экономика сельского хозяйства России. – 2018. – № 10. – С. 2–9.
- Зеленцов, С. В. Перспективные направления адаптивной селекции сои для засушливых условий юга России / С. В. Зеленцов, Е. В. Мошненко // Научно–практические аспекты технологий возделывания и переработки масличных культур, Рязань, 15–16 февраля 2013 года. – Рязань, 2013. – С. 150–152.
- Зинченко, В. А. Химическая защита растений: средства, технология и экологическая безопасность / В. А. Зинченко. – Москва: Колос. – 2012. – 247 с.
- Ивченкова, А. А. Методические подходы к совместному определению пестицидов разной химической природы / А. А. Ивченкова, Н. Е. Федорова, С. Д. Добрев // Здоровье и окружающая среда. – 2022. – С. 510–513.
- Илларионов, А. И. Побочное действие комбинированного инсектицида в отношении не целевых организмов / А. И. Илларионов // Теория и практика инновационных технологий в АПК: Материалы национальной научно–практической конференции, Воронеж, 18–24 апреля 2024 года. – Воронеж: Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 2024. – С. 80–84.
- Илларионов, А. И. Токсичность комбинированных инсектицидов для медоносных пчел / А. И. Илларионов, О. А. Илларионова, А. А. Деркач // Защита и карантин растений. – 2024. – № 6. – С. 12–14.

- Илларионов, А. И. Уровень экологической безопасности инсектицидов для защиты подсолнечника от лугового мотылька (*Pyraustasticticalis L.*) / А. И. Илларионов // Агроэкологический вестник. – 2017. – С. 43–50.
- Калинникова, Т. Б. Токсическое действие пестицидов на пчел: обзор / Т. Б. Калинникова, А. Ф. Гатиятуллина, А. В. Егорова // Российский журнал прикладной экологии. – 2021. – № 3 (27). – С. 50–57.
- Кислицына, А. А. Яровой рапс и меры борьбы с капустной молью в Зауралье / А. А. Кислицына, А. К. Торопова, И. А. Субботин // Достижения и перспективы научно–инновационного развития АПК : сборник статей по материалам II Всероссийской (национальной) научно–практической конференции с международным участием, Курган, 18 февраля 2021 года. – Курган: Курганская государственная сельскохозяйственная академия им. Т.С. Мальцева, 2021. – С. 736–741.
- Коломыцева, В. А. Значение хлопковой совки как основного вредителя сои на юге России и пути снижения её вредоносности / В. А. Коломыцева, Г. В. Черкашин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2018. – № 5 (73). – С. 90–92.
- Комлацкий, В. И. Роль пчеловодства в обеспечении продовольственной безопасности страны / В. И. Комлацкий // Перспективы развития пчеловодства в условиях индустриализации АПК : Сборник статей по материалам Международной научно-практической конференции, Краснодар, 14–16 октября 2020 года. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2020. – С. 4–11.
- Комлацкий, Г. В. Тенденции развития пчеловодства в зоне интенсивного земледелия / Г. В. Колмацкий // Перспективы развития пчеловодства в условиях индустриализации АПК : Сборник статей по материалам Международной научно-практической конференции, Краснодар, 14–16 октября 2020 года. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2020. – С. 135–140.

- Коновалова, Н. Ю. Выращивание ярового рапса на корм и семена в условиях Европейского Севера России / Н. Ю. Коновалова, И. Л. Безгодова, С. С. Коновалова // Аграрный вестник Нечерноземья. – 2022. – № 4 (8). – С. 12–18.
- Кривченко, О. А. Комбинированный инсектицид для защиты картофеля от колорадского жука / О. А. Кривченко, М. Н. Шорохов, О. В. Долженко // Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения : сборник научных трудов по материалам международной научно-практической конференции, Санкт-Петербург – Пушкин, 25–27 мая 2022 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, 2022. – С. 37–40.
- Кулагин, О. В. Новые инсектициды против вредителей рапса / О. В. Кулагин, П. И. Кудашкин // Защита и карантин растений. – 2021. – № 6. – С. 26–27.
- Лаврухина, О. И. Определение остаточных количеств пестицидов в объектах окружающей среды и пищевых продуктах. Обзор / О. И. Лаврухина, В. Г. Амелин, Л. К. Киш // Химическая безопасность. – 2022. – Т. 6. – № 2. – С. 81–116.
- Лаптиева, А. Б. Химический метод в защите посевов масличных культур / А. Б. Лаптиева // Защита и карантин растений. – 2020. – № 11. — С. 16–18.
- Лаптиева, А. Б. Эффективность и безопасность пестицидов в защите подсолнечника от вредных организмов / А. Б. Лаптиева, В. К. Мальцев // Агротехника. – 2023. – № 11. – С. 63–70.
- Лукомец, В. М. Перспективы и резервы расширения производства масличных культур в Российской Федерации / В. М. Лукомец, С. В. Зеленцов, К. М. Кривошлыков // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2015. – № 4 (164). – С. 81–102.
- Мальцев, В. К. Результаты определения остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина в растениях и урожае рапса / В. К. Мальцев, А. Б. Лаптиева // Фундаментальные и прикладные аспекты продовольственной безопасности

: Сборник материалов научных трудов VI Всероссийской научно–практической конференции с международным участием, Большие Вяземы, 21–23 ноября 2023 года. – Москва: АНО «Центр научно–технических решений», 2023. – С. 292–293.

Мальцев, В. К. Результаты определения остаточных количеств хлорпирифоса и бифентрина в растениях и урожае сои / В. К. Мальцев, А. Б. Лаптиев // Защита растений от вредных организмов: Материалы XI международной научно–практической конференции, Краснодар, 19–23 июня 2023 года. Том Выпуск 11. – Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина, 2023. – С. 249–251.

Мальцев, В. К. Современный подход к определению остаточных количеств инсектицидов в урожае масличных культур / В. К. Мальцев, А. Б. Лаптиев // Известия Санкт–Петербургского государственного аграрного университета, – 2024. – № 2 (76). – С. 9–18.

Метод феромониторинга капустной моли (*Plutella xylostella* L.) – опасного вредителя рапса / И. Ю. Бобрешова, Т. А. Рябчинская, С. В. Стуло [и др.] // Агрехимия. – 2020. – №7. – С. 68–75.

Методические указания по определению остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды / Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений", Общество с ограниченной ответственностью "Инновационный центр защиты растений". Том Выпуск 9. под ред. В. И. Долженко. – Коммунар: АльфаМиг. – 2021. – 91 с.

Методические указания по определению остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды / Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений", Общество с ограниченной ответственностью "Инновационный центр

- защиты растений". Том Выпуск 10. под ред. В. И. Долженко. – Санкт–Петербург: Инновационный центр защиты растений. – 2021. – 91 с.
- Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, феромонов, моллюскоцидов и родентицидов в растениеводстве / В. И. Долженко, Г. И. Сухорученко, Л. А. Буркова [и др.]. – Москва: ФГБНУ «Росинформагротех». – 2022. – 508 с.
- Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде / М. А. Клисенко, А. А. Калинина, К. Ф. Новикова, Г. А. Хохолькова. – Москва: Агропромиздат. – 1992. – Т. 1. – 984 с.
- Михайликова, В. В. Использование средств защиты растений в Российской Федерации / В. В. Михайликова, Н. С. Стребкова // Агрехимия. – 2015. – № 12. – С. 56–59.
- Мониторинг пестицидов в продукции растительного происхождения / М. П. Горшкова, М. А. Андреева, Е. А. Киселева [и др.] // Санитарно-эпидемиологическое благополучие населения и защита прав потребителей: региональные аспекты. – 2022. – С. 49–54.
- МУК 4.1.1837-04 Определение остаточных количеств циперметрина в семенах и масле рапса, подсолнечника и сои методом газожидкостной хроматографии / – Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2004.
- МУК 4.1.2299-07 Определение остаточных количеств бифентрина в зерне кукурузы, семенах подсолнечника и растительных маслах методом газожидкостной хроматографии. – Введ. 2007-25-12 – Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2007.
- МУК 4.1.2674-10 Определение остаточных количеств бифентрина в семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии. – Введ. 2010-01-10 – Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2010.
- МУК 4.1.2918-11 Определение остаточных количеств хлорпирифоса в зерне и соломе пшеницы, яблоках и яблочном соке, семенах и масле рапса, клубнях

картофеля методом капиллярной газожидкостной хроматографии. – Введ. 2011-12-07 – Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2011.

МУК 4.1.2938-11 Определение остаточных количеств бифентрина в капусте, зерне гороха, сои и соевом масле методом газожидкостной хроматографии. – Введ. 2011–12–07 – Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2011.

МУК 4.1.3236-14 Определение остаточных количеств циклоксидима в воде, почве, ботве и корнеплодах сахарной свеклы, клубнях картофеля, горохе, семенах подсолнечника, рапса, бобах сои и растительном масле методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. – Введ. 2014–22–12 – Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2014.

МУК 4.1.3409-16 Определение остаточных количеств фипронила и его метаболита фипронил–сульфона в зеленой массе, бобах сои, зерне кукурузы, семенах подсолнечника и растительном масле методом капиллярной газожидкостной хроматографии. – Введ. 2016-29-12 – Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2016.

Осипова, Г. М. Рапс (особенности биологии, селекции в условиях Сибири и экологические аспекты использования) / Г. М. Осипова, Д. А. Потапов. – Новосибирск: ЦНСХБ, 2009. – 131 с.

Оценка содержания пестицидов в раннем картофеле газохроматографическим методом / Ю. Г. Атаева, Ф. А. Бекмуратова, С. Л. Мохтарова, К. Е. Буркин // Современные проблемы экспериментальной и клинической токсикологии, фармакологии и экологии: Сборник тезисов докладов Международной научно-практической конференции, Казань, 09–10 сентября 2021 года. – Казань: Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 2021. – С. 89–93.

Патент № 2730399 С1 Российская Федерация, МПК G01N 30/02. Способ определения неоникотиноидов в подморе пчел с использованием

высокоэффективной жидкостной хроматографии: № 2019122679 : заявл. 15.07.2019: опубл. 21.08.2020 / А. М. Сайфутдинов, В. И. Егоров, Э. И. Семенов и др. ; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности" (ФГБНУ "ФЦТРБ–ВНИВИ").

Подгорная, М. Е. Мониторинг остаточных количеств инсектицидов фосфорорганического синтеза в саду яблони / М. Е. Подгорная, Ю. М. Серова // Плодоводство и ягодоводство России. – 2010. – № 2. – С. 367–372.

Пушня, М. В. Разработка биологических методов защиты сои в центральной зоне Краснодарского края / М. В. Пушня, Е. Г. Снесарева, Е. Ю. Родионова // Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки. – 2020. – С. 89–91.

Ресурсосберегающая технология возделывания озимого рапса на семена в Нечерноземной зоне России / Ю. К. Новоселов, В. Т. Воловик, В. В. Рудоман [и др.]. – Москва: Российский центр сельскохозяйственного консультирования. – 2010. – 36 с.

Роль опыления в получении высоких урожаев подсолнечника / В. М. Лукомец, А. Г. Маннапов, В. В. Ляхов, А. Д. Бочковой // Пчеловодство. – 2016. – № 6. – С. 23–25.

Семенова, Н.Н. Моделирование перераспределения пестицидов в листьях растений с целью оптимизации их применения / Н.Н. Семенова // Агротехника. – 2007. – № 10. – С. 50–61.

Семеренко, С. А. Значение феромониторинга для своевременного выявления насекомых вредителей в посевах масличных культур и борьбы с ними / С. А. Семеренко // Защита и карантин растений. – 2020. – № 9. – С. 30–31.

Семеренко, С. А. Изменение видового состава насекомых – вредителей подсолнечника в условиях юга России / С. А. Семеренко // Защита и карантин растений. – 2020. – № 3. – С. 22–26.

- Семеренко, С. А. Эффективность контроля численности совки хлопковой (*Helicoverpa armigera* Hbn.) в посевах подсолнечника / С. А. Семеренко, Н. А. Бушнева // Масличные культуры. – 2023. – № 3 (195). – С. 69–75.
- Современная методология пробоподготовки при определении остаточных количеств пестицидов в объектах окружающей среды, биологических материалах и пищевой продукции / О. И. Лаврухина, В. Г. Амелин, Л. К. Киш, А. В. Третьяков // Известия высших учебных заведений. Серия «химия и химическая технология». – 2023. – Т. 66. – № 12. – С. 6–24.
- Создание сортов сои с расширенной адаптацией к изменяющемуся климату Западного Предкавказья / В. М. Лукомец, Н. И. Бочкарев, С. В. Зеленцов, Е. В. Мошненко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2012. – № 35. – С. 248–254.
- Соловьева, Л. Ф. Защитить пчел от отравления пестицидами / Л. Ф. Соловьева // Защита и карантин растений. – 2012. – № 5. – С. 53–54.
- Сычева, И. И. Современное состояние и проблемы производства рапса в России / И. И. Сычева, А. П. Казаков // Russian Agricultural Science Review. – 2015. – Т. 7, № 7–1. – С. 104–124.
- Твердофазная экстракция органических веществ: нетрадиционные методы и подходы / П. С. Федотов, Г. И. Малофеева, Е. Ю. Савонина, Б. Я. Спиваков // Журнал аналитической химии. – 2019. – Т. 74. – № 3. – С. 163–172.
- Усенкова, А. А. Масложировая промышленность России: тенденции и перспективы развития / А. А. Усенкова, Н. В. Кузнецова // Юность и знания–гарантия успеха–2020. – 2020. – С. 227–230.
- Федеральный закон от 30 декабря 2020 г. № 490–ФЗ “О пчеловодстве в Российской Федерации” // Государственная Дума. – 2020.
- Хаматшин, А. М. Не допустить гибели пчел из-за неосторожного применения пестицидов / А. М. Хаматшин, Э. М. Садыкова // Защита и карантин растений. – 2020. – № 6. – С. 8–10.
- Чирков, М. В. Защита рапса – основа получения высокого урожая семян / М. В. Чирков, Г. П. Москаленко // Земледелие. – 2009. – № 2. – С. 34–35.

- Шорохов, М. Н. Комбинированный инсектицид для защиты рапса / М. Н. Шорохов, О. А. Кривченко // Плодородие. – 2024. – № 1. – С. 61–62.
- Шорохов, М. Н. Экотоксикологическая оценка фосфорорганических, пиретроидных и комбинированных инсектицидов, используемых против клопа вредной черепашки / М. Н. Шорохов, В. И. Долженко // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2013. – № 33. – С. 49–53.
- Эффективность применения агроприемов на участке гибридизации подсолнечника для улучшения физико–механических и биологических свойств выращиваемых семян / А. С. Бушнев, А. К. Гриднев, Ю. В. Мамырко [и др.] // Масличные культуры. – 2023. – № 2 (194). – С. 76–85.
- Эффективность применения инсектицидов против рапсового цветоеда в посевах озимого рапса / А. А. Запрудский, Д. Ф. Привалов, С. А. Гайдарова, Е. В. Стрелкова // Защита растений. – 2024. – № 1(48). – С. 225–233.
- A critical review of the state of the art of solid–phase microextraction of complex matrices I. Environmental analysis / É. A. Souza-Silva, R. Jiang, Á. Rodríguez-Lafuente [et al.] // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2015. – Vol. 71. – P. 224–235.
- A two-year monitoring of pesticide hazard in–hive: High honey bee mortality rates during insecticide poisoning episodes in apiaries located near agricultural settings / P. Calatayud-Vernich, F. Calatayud, E. Simo [et al.] // Chemosphere. – 2019. – Vol. 232. – P. 471–480.
- Abdel Ghani, S. B. A Fast and Easy QuEChERS – DLLME Method Combined with GC–MS for Ethion and Bifenthrin Residues Determination and Study of Their Dissipation Dynamics in Palm Dates / S. B. Abdel Ghani, S. S. Alhewairini, S. Hrouzková // Food Anal. Methods. Food Analytical Methods. – 2018. – Vol. 11. – N 12. – P. 3542–3550.
- An overview on common aspects influencing the dissipation pattern of pesticides: a review / W. Farha, A. M. Abd El-Aty, Md. Musfiqur Rahman [et al.] // Environmental Monitoring and Assessment. – 2016. – Vol. 188. – P. 1–21.

- Analysis of pesticide residues in olive oil and other vegetable oils/ E. Hakme, A. Lozano, C. Ferrer [et al.] // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2018. – Vol. 100. – P. 167–179.
- Anastasiades, M. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce / M. Anastasiades // *J. AOAC Int.* – 2003. – Vol. 86. – P. 412–431.
- Andraščíková, M. Combination of QuEChERS and DLLME for GC-MS determination of pesticide residues in orange samples / M. Andraščíková, S. Hrouzková, S. C. Cunha // *Food Additives & Contaminants: Part A*. – 2013. – Vol. 30. – N 2. – P. 286–297.
- Applications of solid-phase microextraction in food analysis / C. H. Xu, G. S. Chen, Z. H. Xiong [et al.] // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2016. – Vol. 80. – P. 12–29.
- Bargańska, Ż. Determination of pesticide residues in honeybees using modified QUEChERS sample work-up and liquid chromatography–tandem mass spectrometry / Ż. Bargańska, M. Ślebioda, J. Namieśnik // *Molecules*. – 2014. – Vol. 19. – N 3. – P. 2911–2924.
- Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value / B. K. Klatt, A. Holzschuh, C. Westphal [et al.] // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2014. – Vol. 281. – N 1775. – P. 20132440.
- Bioindicator detection of pesticide residues in the environment using honey bees / G. Jurak, J. Bošnjir, A. Racz [et al.] // *Journal of environmental protection and ecology*. – 2021. – Vol. 22. – N 2. – P. 458–466.
- Chlorpyrifos residue levels on field crops (rice, maize and soybean) in China and their dietary risks to consumers / R. Li, L. He, W. Wei [et al.] // *Food Control*. Elsevier Ltd. – 2015. – Vol. 51. – P. 212–217.
- Comprehensive evaluation of the clean-up step in QuEChERS procedure for the multi-residue determination of pesticides in different vegetable oils using LC–MS/MS

- / L. Polgár, B. Kmellár, J. F. García-Reyesb, P. Fodora // *Anal. Methods.* –2012. –Vol. 4. – N 4. –P. 1142–1148.
- CVD grown carbon nanofibers: an efficient DSPE sorbent for cleanup of multi-class pesticide residue in high fat and low water commodities by QuEChERS using GC–ECD / M. Singh, A. Srivastava, Y. K. Sharma [et al.] // *Microchimica Acta.* – 2020. – Vol. 187. – P. 1–10.
- Development and validation of an analytical method for the multiresidue analysis of pesticides in sesame seeds using liquid–and gas chromatography with tandem mass spectrometry / R. Shinde, A. Pardeshi, M. Dhanshetty [et al.] // *Journal of Chromatography A.* – 2021. – Vol. 1652. – P. 462346.
- Ecotoxicology of synthetic pyrethroids / S. J. Maund, P. J. Campbell, J. M. Giddings [et al.] // *Pyrethroids: From Chrysanthemum to Modern Industrial Insecticide.* – 2012. – P. 137–165.
- Evaluation of a modified QuEChERS method for the extraction of pesticides from agricultural, ornamental and forestal soils / M. Asensio-Ramos, J. Hernández-Borges, L. M. Ravelo-Pérez, M. A. Rodríguez-Delgado // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2010. – Vol. 396. – N 6. –P. 2307–2319.
- Fast determination of neonicotinoid insecticides in bee pollen using QuEChERS and ultra-high performance liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight mass spectrometry / S. Valverde, J. L. Bernal, M. T. Martín [et al.] // *Electrophoresis.* – 2016. – Vol. 37. – N 19. – P. 2470–2477.
- Ferraro, D. O. Pesticides in agroecosystems and their ecological effect on the structure and function of soil faunal population / D. O. Ferraro, D. Pimentel // *J. of the Rachel Carson Council.* – 2000. – N 2. – P. 234–245.
- Global growth and stability of agricultural yield decrease with pollinator dependence / L. A. Garibaldi, M. A. Aizen, A. M. Klein [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 2011. – Vol. 108. – N 14. – P. 5909–5914.
- Hrynko, I. A global study of pesticides in bees: QuEChERS as a sample preparation methodology for their analysis–Critical review and perspective / I. Hrynko,

- P. Kaczyński, B. Łozowicka // *Science of the Total Environment*. – 2021. – Vol. 792. – P. 148385.
- Impacts of neonicotinoid seed treatments on the wild bee community in agricultural field margins / A. R. Main, E. B. Webb, K. W. Goynes // *Science of The Total Environment*. – 2021. – Vol. 786. – P. 1–9.
- Jun, B. I. Determination of 77 pesticide residues in vegetables and fruits by liquid chromatography – high resolution mass spectrometry coupled with QuEChERS and cold induced liquid–liquid extraction / B. I. Jun, R. Jun, Z. Yun–feng, C. Daiwei // *Journal of Instrumental Analysis*. – 2021. – Vol. 40. – N 9. – P. 1318–1327.
- Kaczynski, P. Evolution of novel sorbents for effective clean-up of honeybee matrix in highly toxic insecticide LC/MS/MS analysis / P. Kaczynski, I. Hrynko, B. Łozowicka // *Ecotoxicology and environmental safety*. – 2017. – Vol. 139. – P. 124–131.
- Koesukwiwat, U. Rapid determination of phenoxy acid residues in rice by modified QuEChERS extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry / U. Koesukwiwat, K. Sanguankaw, N. Leepipatpiboon // *Anal. Chim. Acta*. – 2008. – Vol. 626. – N 1. – P. 10–20.
- Lehotay, S. J. Evaluation of two fast and easy methods for pesticide residue analysis in fatty food matrixes / S. J. Lehotay, K. Maštovská, S. J. Yun // *Journal of AOAC International*. – 2005. – Vol. 88. – N 2. – P. 630–638.
- Lewis, K. A. An international database for pesticide risk assessments and management / K. A. Lewis // *Human and ecological risk assessment: An International Journal*. – 2016. – Vol. 22. – N 4. – P. 1050–1064.
- Łozowicka, B. The development, validation and application of a GC–dual detector (NPD–ECD) multi-pesticide residue method for monitoring bee poisoning incidents / B. Łozowicka // *Ecotoxicology and environmental safety*. – 2013. – Vol. 97. – P. 210–222.
- Madej, K. The potential of graphene as an adsorbent for five pesticides from different classes in rape oil samples using dispersive solid–phase extraction / K. Madej,

- K. Janiga, W. Piekoszewski // *Journal of analytical methods in chemistry*. – 2018. – Vol. 2018 – P. 1–8.
- Mekonnen, B. Determination of Pesticide Residues in Food Premises Using QuECHERS Method in Bench-Sheko Zone, Southwest Ethiopia / B. Mekonnen, J. Siraj, S. Negash // *BioMed research international*. – 2021. – Vol. 2021. – N 1. – P. 6612096.
- Miniaturized analytical methods for determination of environmental contaminants of emerging concern—a review / F. Pena-Pereira, C. Bendicho, D. Pavlović [et al.] // *Analytica chimica acta*. – 2021. – Vol. 1158. – P. 238108.
- Muhammad, R. Extraction techniques for pesticide residues analysis in edible oils and role of sorbents in cleanup / R. Muhammad, K. Ahad, F. Mehboob // *Separation Science Plus*. – 2019. – Vol. 3. – N 3. – P. 51–62.
- Multi-residue determination of veterinary drugs in milk by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry / M. M. Aguilera-Luiz, J. L. Martínez Vidal, R. Romero-González, A. Garrido Frenich // *J. Chromatogr. A*. – 2008. – Vol. 1205. –N 1–2. – P. 10–16.
- Multi-residue method for the determination of pesticides and pesticide metabolites in honeybees by liquid and gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry—Honeybee poisoning incidents / T. Kiljanek, A. Niewiadowska, S. Semeniuk [et al.] // *Journal of chromatography A*. – 2016. – Vol. 1435. – P. 100–114.
- Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment / T. Blacquièrè, G. Smagghe, C. van Gestel, V. Mommaerts // *Ecotoxicology*. – 2012. – Vol. 21. – P. 973–992.
- Pesticide residues in honeybees, honey and bee pollen by LC-MS/MS screening: Reported death incidents in honeybees / K. M. Kasiotis, C. Anagnostopoulos, P. Anastasiadou, K. Machera // *Science of the Total Environment*. – 2014. – Vol. 485. – P. 633–642.

- Pesticides residues and metabolites in honeybees: A Greek overview exploring Varroa and Nosema potential synergies / K. M. Kasiotis, E. Zafeiraki, E. Kapaxidi [et al.] // *Science of the Total Environment*. – 2021. – Vol. 769. – P. 145213.
- Pesticides residues in milks and feedstuff of farm animals drawn from Greece / E. Tsiplakou, C. J. Anagnostopoulos, K. Liapis [et al.] // *Chemosphere*. Elsevier Ltd. – 2010. – Vol. 80. – N 5. – P. 504–512.
- QuEChERS – Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends / F. Pena-Pereira, C. Bendicho, D. M. Pavlović [et al.] // *Anal. Chim. Acta*. Elsevier B.V. – 2019. – Vol. 1070. – P. 1–28.
- Recent developments and applications of QuEChERS based techniques on food samples during pesticide analysis / H. Musarurwa, L. Chimuka, V. Pakade, N. T. Tavengwa // *Journal of Food Composition and Analysis*. C 2019. – Vol. 84. – P. 103314.
- Residues of neonicotinoid insecticides in bee collected plant materials from oilseed rape crops and their effect on bee colonies / K. Pohorecka, P. Skubida, A. Mischczak, A. Bober // *Journal of Apicultural Science*. – 2012. – Vol. 56. – N 2. – P. 115–134.
- Romero-González, R. Multiresidue method for fast determination of pesticides in fruit juices by ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry / R. Romero-González, A. G. Frenich, J.L.M. Vidal // *Talanta*. – 2008. – Vol. 76. – N 1. – P. 211–225.
- Ruan, C. Determination of diflubenzuron and chlorbenzuron in fruits by combining acetonitrile-based extraction with dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography / C. Ruan, X. Zhao, C. Liu // *Journal of Separation Science*. – 2015. – Vol. 38. – N 17. – P. 2931–2937.
- Salting-out assisted liquid/liquid extraction with acetonitrile: A new high throughput sample preparation technique for good laboratory practice bioanalysis using liquid chromatography–mass spectrometry / J. Zhang, H. Wu, E. Kim, T. A. El-Shourbagy // *Biomed. Chromatogr.* – 2009. – Vol. 23. – N 4. – P. 419–425.

- Shao, G. Cold-induced aqueous acetonitrile phase separation: A salt-free way to begin quick, easy, cheap, effective, rugged, safe / G. Shao, J. Agar, R. W. Giese // *Journal of Chromatography A*. – 2017. – Vol. 1506. – P. 128–133.
- Simple and rapid method of analysis for determination of pesticide residues in honey using dispersive solid phase extraction and GC determination / A. A. Barakat, H. M. Badawy, E. Samala, E. R. Attallah // *J. Food, Agric. Environ.* – 2007. – Vol. 5. – N 2. – P. 97–100.
- Tankiewicz, M. Determination of selected priority pesticides in high water fruits and vegetables by modified QuEChERS and GC-ECD with GC-MS/MS confirmation / M. Tankiewicz // *Molecules*. MDPI AG. – 2019. – Vol. 24. – N 3. – P. 417.
- Ultrasound-assisted, hybrid ionic liquid, dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of insecticides in fruit juices based on partition coefficients / H. Zeng, X. Yang, M. Yang [et al.] // *Journal of Separation Science*. – 2017. – Vol. 40. – N 17. – P. 3513–3521.
- Validation of an analytical method for the determination of pesticide residues in vine leaves by GC-MS/MS / B. Maestroni, A. Alnaser, I. Ghanem [et al.] // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2018. – Vol. 66. – N 25. – P. 6421–6430.
- Watanabe, E. Review of sample preparation methods for chromatographic analysis of neonicotinoids in agricultural and environmental matrices: From classical to state-of-the-art methods / E. Watanabe // *Journal of Chromatography A*. – 2021. – Vol. 1643. – P. 462042.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Таблица – Содержание хлорпирифоса и бифентрина в растениях и урожае ярового рапса при однократном применении препарата Фосорган Дуо, КЭ в норме 0,6 л/га (2021 год)

Хлорпирифос, мг/кг								
Номер пробы	День обработки	3 сутки	7 сутки	10 сутки	14 сутки	21 сутки	27 сутки	Урожай
1	1,515	0,154	0,044	0,019	0,008	н.о.	н.о.	н.о.
2	1,013	0,087	0,013	0,016	0,009	н.о.	н.о.	н.о.
3	1,064	0,171	0,027	0,036	0,007	н.о.	н.о.	н.о.
4	0,990	0,143	0,046	0,016	0,011	н.о.	н.о.	н.о.
5	1,001	0,103	0,054	0,018	0,010	н.о.	н.о.	н.о.
Средн.	1,117	0,132	0,037	0,021	0,009	-	-	-
Станд.отклон	0,224	0,035	0,017	0,008	0,002	-	-	-
Доверит. инт.	0,197	0,031	0,015	0,007	0,001	-	-	-
Бифентрин, мг/кг								
1	0,206	0,056	0,040	0,030	0,016	н.о.	н.о.	н.о.
2	0,153	0,050	0,030	0,025	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
3	0,136	0,057	0,045	0,030	0,012	н.о.	н.о.	н.о.
4	0,148	0,057	0,027	0,028	0,015	н.о.	н.о.	н.о.
5	0,138	0,049	0,036	0,027	0,014	н.о.	н.о.	н.о.
Средн.	0,156	0,054	0,036	0,028	0,011	-	-	-
Станд.отклон	0,029	0,004	0,007	0,002	0,007	-	-	-
Доверит. инт.	0,025	0,003	0,006	0,002	0,006	-	-	-

Приложение 2

Таблица – Содержание хлорпирифоса и бифентрина в растениях и урожае ярового рапса при однократном применении препарата Фосорган Дуо, КЭ в норме 1,2 л/га (2021 год)

Хлорпирифос, мг/кг								
Номер пробы	День обработки	3 сутки	7 сутки	10 сутки	14 сутки	21 сутки	27 сутки	Урожай
1	2,825	0,463	0,122	0,031	0,012	н.о.	н.о.	н.о.
2	2,681	0,459	0,082	0,029	0,010	н.о.	н.о.	н.о.
3	2,722	0,731	0,143	0,027	0,014	н.о.	н.о.	н.о.
4	1,956	0,221	0,109	0,034	0,014	н.о.	н.о.	н.о.
5	2,214	0,435	0,094	0,031	0,014	н.о.	н.о.	н.о.
Средн.	2,480	0,462	0,110	0,030	0,013	-	-	-
Станд.отклон	0,375	0,181	0,024	0,003	0,002	-	-	-
Доверит. инт.	0,329	0,159	0,021	0,002	0,002	-	-	-
Бифентрин, мг/кг								
1	0,453	0,142	0,064	0,070	0,027	н.о.	н.о.	н.о.
2	0,686	0,163	0,088	0,022	0,025	н.о.	н.о.	н.о.
3	0,392	0,151	0,083	0,033	0,024	н.о.	н.о.	н.о.
4	0,550	0,210	0,091	0,036	0,027	н.о.	н.о.	н.о.
5	0,381	0,192	0,059	0,030	0,023	н.о.	н.о.	н.о.
Средн.	0,492	0,172	0,077	0,038	0,025	-	-	-
Станд.отклон	0,127	0,029	0,015	0,019	0,002	-	-	-
Доверит. инт.	0,112	0,025	0,013	0,016	0,002	-	-	-

Приложение 3

Таблица – Содержание хлорпирифоса и бифентрина в растениях и урожае ярового рапса при однократном применении препарата Фосорган Дуо, КЭ в норме 0,6 л/га (2022 год)

Хлорпирифос, мг/кг								
Номер пробы	День обработки	3 сутки	7 сутки	10 сутки	14 сутки	21 сутки	27 сутки	Урожай
1	1,380	0,173	0,032	0,005	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
2	1,222	0,171	0,052	0,006	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
3	0,733	0,175	0,024	0,006	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
4	0,586	0,173	0,067	0,005	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
5	0,882	0,182	0,016	0,005	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.
Средн.	0,961	0,175	0,038	0,005	-	-	-	-
Станд.отклон	0,333	0,004	0,021	0,001	-	-	-	-
Доверит. инт.	0,292	0,004	0,018	0,000	-	-	-	-
Бифентрин, мг/кг								
1	0,229	0,046	0,035	0,016	0,003	н.о.	н.о.	н.о.
2	0,205	0,074	0,041	0,016	0,003	н.о.	н.о.	н.о.
3	0,104	0,061	0,038	0,014	0,002	н.о.	н.о.	н.о.
4	0,116	0,096	0,051	0,015	0,004	н.о.	н.о.	н.о.
5	0,156	0,046	0,025	0,019	0,004	н.о.	н.о.	н.о.
Средн.	0,492	0,172	0,077	0,038	0,025	-	-	-
Станд.отклон.	0,127	0,029	0,015	0,019	0,002	-	-	-
Доверит. инт.	0,112	0,025	0,013	0,016	0,002	-	-	-

Приложение 4

Таблица – Содержание хлорпирифоса и бифентрина в растениях и урожае ярового рапса при однократном применении препарата Фосорган Дуо, КЭ в норме 1,2 л/га (2022 год)

Хлорпирифос, мг/кг								
Номер пробы	День обработки	3 сутки	7 сутки	10 сутки	14 сутки	21 сутки	27 сутки	Урожай
1	2,104	0,381	0,097	0,022	0,014	н.о.	н.о.	н.о.
2	2,832	0,412	0,103	0,026	0,010	н.о.	н.о.	н.о.
3	0,706	0,333	0,136	0,015	0,012	н.о.	н.о.	н.о.
4	2,353	0,297	0,051	0,026	0,011	н.о.	н.о.	н.о.
5	3,398	0,488	0,084	0,036	0,009	н.о.	н.о.	н.о.
Средн.	2,279	0,382	0,094	0,025	0,011	-	-	-
Станд.отклон.	1,009	0,074	0,031	0,008	0,002	-	-	-
Доверит. инт.	0,884	0,065	0,027	0,007	0,002	-	-	-
Бифентрин, мг/кг								
1	0,441	0,172	0,055	0,030	0,026	н.о.	н.о.	н.о.
2	0,450	0,183	0,057	0,014	0,026	н.о.	н.о.	н.о.
3	0,133	0,160	0,088	0,015	0,025	н.о.	н.о.	н.о.
4	0,492	0,101	0,017	0,052	0,027	н.о.	н.о.	н.о.
5	0,737	0,232	0,054	0,059	0,013	н.о.	н.о.	н.о.
Средн.	0,451	0,170	0,054	0,034	0,023	-	-	-
Станд.отклон.	0,215	0,047	0,025	0,021	0,006	-	-	-
Доверит. инт.	0,188	0,041	0,022	0,018	0,005	-	-	-

Приложение 5

Таблица – Содержание хлорпирифоса и бифентрина в растениях и урожае ярового рапса при двукратном применении препарата Фосорган Дуо, КЭ в норме 0,6 л/га (2022 год)

№	День 1обр.	3 сут.	7 сут.	10 сут.	14 сут.	14 сут., 2 обр.	17 сут.	20 сут.	23 сут.	27 сут.	34 сут.	Ур-й
Хлорпирифос, мг/кг												
1	1,637	0,737	0,048	0,038	0,008	1,648	0,038	0,009	0,008	0,005	н.о.	н.о.
2	2,206	0,774	0,074	0,034	0,027	1,487	0,025	0,005	0,020	0,010	н.о.	н.о.
3	1,525	0,720	0,181	0,052	0,013	1,018	0,041	0,009	0,009	0,003	н.о.	н.о.
4	1,233	0,942	0,096	0,039	0,009	2,062	0,044	0,017	0,007	н.о.	н.о.	н.о.
5	1,445	0,694	0,099	0,032	0,009	0,806	0,043	0,005	0,005	0,007	н.о.	н.о.
X _{ср}	1,609	0,773	0,100	0,039	0,013	1,404	0,038	0,009	0,010	0,005	-	-
Sd	0,365	0,099	0,050	0,008	0,008	0,501	0,008	0,005	0,006	0,004	-	-
P	0,320	0,086	0,044	0,007	0,007	0,440	0,007	0,004	0,005	0,003	-	-
Бифентрин, мг/кг												
1	0,173	0,117	0,054	0,079	0,044	0,125	0,063	0,079	0,027	0,047	0,015	н.о.
2	0,251	0,102	0,097	0,062	0,043	0,200	0,058	0,045	0,096	0,053	0,012	н.о.
3	0,144	0,108	0,087	0,061	0,044	0,208	0,069	0,068	0,067	0,041	0,021	н.о.
4	0,250	0,107	0,062	0,056	0,041	0,331	0,059	0,082	0,064	0,045	0,013	н.о.
5	0,252	0,108	0,054	0,064	0,047	0,285	0,081	0,062	0,063	0,043	0,017	н.о.
X _{ср}	0,214	0,108	0,071	0,064	0,044	0,230	0,066	0,067	0,063	0,046	0,016	-
Sd	0,052	0,005	0,020	0,009	0,002	0,080	0,009	0,015	0,025	0,005	0,004	-
P	0,045	0,005	0,017	0,008	0,002	0,070	0,008	0,013	0,021	0,004	0,003	-