

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 543.544.5.068.7+543.51

doi: 10.26907/2542-064X.2021.1.61-71

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИКВАТА И ПАРАКВАТА МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ОБЪЕКТАХ ЭКОМОНИТОРИНГА

*И.М. Фицев, А.Ю. Лихачева, А.М. Сайфутдинов, А.З. Мухарлямова,
С.Л. Мохтарова, Ж.Р. Насыбуллина*

*Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности,
г. Казань, 420075, Россия*

Аннотация

В работе представлены результаты определения пестицидов класса четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) – диквата и параквата – в объектах экомониторинга. Определение ЧАС проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с УФ-детектированием, применяя для пробоподготовки твердофазную экстракцию. Результаты ВЭЖХ определения ЧАС подтверждали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии – квадрупольной времяпролетной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС) с ионизацией электрораспылением. По результатам исследований установлено, что в образцах почвы, на которых выращивали подсолнечник, пшеницу и картофель, обнаружен дикват, среднее содержание которого составило 0.17 ± 0.02 мг/кг, что ниже его максимально допустимого уровня. Исследования природных поверхностных вод водоемов, расположенных в непосредственной близости от сельхозугодий, подвергавшихся обработке ЧАС, не выявили в них гербицидов данной группы.

Ключевые слова: экомониторинг природных объектов, четвертичные аммониевые соединения, дикват, паракват, высокоэффективная жидкостная хроматография, квадрупольная времяпролетная масс-спектрометрия

Введение

Интенсификация современного агропромышленного производства с целью повышения его продуктивности и последующего сохранения продовольственного и кормового сырья невозможна без применения средств агрохимии, что, на первый взгляд, решает проблему нехватки продовольствия и кормов, однако при этом увеличивает антропогенное воздействие на окружающую среду. Долгое время гербициды класса четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) – дикват (1,1-этилен-2,2-дипиридилий дибромид) и паракват (1,1-диметил-4,4-дипиридилий дихлорид) – являлись наиболее распространенными в мире, и только лишь относительно недавно лидирующее место по объемам производства занял глифосат. Гербициды класса ЧАС, проявляющие сильно выраженное гербицидное неспецифическое действие, зачастую используются в качестве дефолиантов и десикантов [1].

Обсуждаемые дипиридилиевые гербициды чрезвычайно полярны и гидрофильны (растворимость при 20 °С составляет 700 г/л для диквата и 620 г/л для

параквата). Установлено, что паракват и дикват хорошо адсорбируются почвой, при этом наибольшая сорбция проявляется в глинистых почвах, что, в свою очередь, обусловлено способностью полярных молекул внедряться между слоями решетки и удерживаться силами кулоновского взаимодействия [2]. Гербициды ЧАС также прочно связываются с минеральными и органическими компонентами природных вод, где накапливаются в течение многих лет, не подвергаясь биodeградации.

Из литературных данных [3, 4] известно, что механизм токсического действия диквата и параквата заключается в образовании свободных радикалов, что приводит к окислительному стрессу [5]. При попадании в организм пестициды класса ЧАС встраиваются в цепочку переноса электронов и зачастую вызывают гибель клеток. Дикват и паракват воздействуют как реагенты окислительно-восстановительного цикла, перенося собственный электрон на молекулярный кислород. После этого образующийся супероксидный анион-радикал диспропорционирует. Впоследствии гидропероксиды липидов разлагаются на свободные радикалы липидов, вызывая цепную реакцию перекисного окисления липидов [6]. Вместе с этим подавление фотосинтеза в клетках растений также протекает с образованием супероксидного анион-радикала, обладающего выраженными фототоксическими свойствами [7].

Результаты целого ряда исследований [8–10] показали корреляцию хронического воздействия дипиридилиевых гербицидов и возникновения болезни Паркинсона – возрастного прогрессирующего нейродегенеративного заболевания, связанного с обширной дегенерацией нейронов в черной субстанции. Кроме этого, имеются данные о повреждении легких и болезнях почек и печени [11], в том числе и у сельскохозяйственных животных, на фоне хронической интоксикации дипиридилиевыми гербицидами [12]. При попадании в водоемы гербициды ЧАС оказывают токсичное действие на водоросли, рыбу и другие водные организмы. Таким образом, контроль содержания гербицидов класса ЧАС, так же как и других пестицидов – органических загрязнителей [14–17], в объектах окружающей среды, кормах, продовольственном сырье и пищевых продуктах является актуальным.

Цель настоящей работы состояла в определении гербицидов класса ЧАС – диквата и параквата – в почвах сельхозугодий, подвергавшихся обработке ЧАС, а также в природной поверхностной воде водоемов, расположенных в непосредственной близости от них, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с УФ-детектированием.

1. Экспериментальная часть

1.1. Аппаратура и оборудование. В работе применяли жидкостный хроматограф Dionex UltiMate3000, включающий диодно-матричный детектор DAD-3000(RS), бинарный градиентный насос, автоматический пробоотборник, дегазатор, термостат хроматографической колонки (Thermo-Fisher Scientific, США). Хроматографическое разделение проводили на колонке с обращенной фазой Acclaim 120 C18 (2.2 мкм, 100×2.1 мм, Thermo-Fisher Scientific, США).

Условия проведения ВЭЖХ анализа. Элюент А состава: H₂O, содержащая 10 мМ HCOONH₄, 0.1% HCOOH и 15 мМ HFBA, элюент В – CH₃OH.

Применяли градиентный режим элюирования по следующей программе: 0 мин – 5% В при скорости потока 0.2 см³/мин; 3 мин – 5% В при скорости потока 0.2 см³/мин; 7 мин – 85% В при скорости потока 0.25 см³/мин; 10.0 мин – 85% В при скорости потока 0.35 см³/мин; 30 мин – 5% В при скорости потока 0.2 см³/мин. Температура термостата колонки – 35 °С. Объем вводимой пробы – 10 мкл.

Настройку, подбор условий хроматографического разделения и обработку хроматографических данных проводили с использованием ПО Chromeleon и Chromatography Data System (Thermo Fisher Scientific, США).

Для подтверждения результатов определений ЧАС в объектах экомониторинга применяли ВЭЖХ, совмещенную с квадрупольным времяпролетным масс-спектрометрическим (МС) детектором высокого разрешения Bruker Impact II, снабженным ESI-источником ионизации Ion Booster (Bruker Daltonics, Германия). Количественное определение гербицидов осуществляли при положительной ионизации в режиме мониторинга множественных реакций (MRM). Напряжение ESI-источника составляло 500 В на распылительном щите, на капилляре – 4600 В. В качестве газа распылителя использовали N₂, («ос.ч») при давлении – 0.4 бар, скорость потока газа-осушителя (N₂) составляла 4.5 л/мин при температуре 180 °С, скорость потока газа-испарителя (N₂) – 250 л/ч при температуре 250 °С.

Обработку хромато-масс-спектрометрических данных осуществляли с помощью ПО Data Analysis (Bruker Daltonics, Германия).

Применяли аналитические весы A&D HR-250 AZG (A&D, Корея), механический шейкер Multi Reax (Heidolph Instruments, Германия), центрифугу Centrifuge 5430R (Eppendorf, Германия), систему очистки воды Barnstead Pacific-III (Thermo Fisher Scientific, США).

1.2. Материалы и реактивы. Использовали аналитические стандарты диквата (CAS № 6385-62-2, кат. № 45422, Supelco, США) и параквата (CAS № 75365-73, кат. № 36541, Supelco, США). Исходные растворы катионов диквата и параквата ($C = 100$ мкг/см³) и калибровочные растворы (получали разбавлением исходных) готовили на деионизированной воде. Применяли гептафтормасляную кислоту (HFBA, CAS № 52411, кат. № 375-22-4, Supelco, США), CH₃OH квалификации HPLC Grade (Merck, Германия), NaOH, ЭДТА, H₂SO₄, Na₂SO₄, NH₄OH, HCOONH₄, HCOOH квалификации х.ч.

1.3. Объекты исследования. Образцы почвы из-под культур продовольственного и кормового сырья (подсолнечник, картофель, пшеница, горох, ячмень, кукуруза) отбирали из слоя глубиной до 5 см. Пробы воды брали из водоемов, расположенных в непосредственной близости к сельхозугодиям: рек Меша и Брысса Лаишевского района, рек Бува и Кубня Зеленодольского района, рек Меминка и Кашерша Верхнеуслонского района Республики Татарстан.

1.4. Подготовка проб почвы. К представительному образцу почвы массой 5 г добавляли 25 см³ смеси 5%-ного раствора ЭДТА, подкисленного 2% HCOOH, и метанол в соотношении 70:30 (по объему). Экстракцию проводили на механическом шейкере в течение 1.5 ч. Экстракт центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин. Полученный супернатант концентрировали в токе N₂ до объема

4 см³ и доводили до pH 9–10, применяя 3 М раствор NaOH. Полученный экстракт очищали на микроколонке с SiO₂ (0.040–0.063 мм, или 60–120 меш) и исследовали методом ВЭЖХ.

1.5. Подготовка проб воды. Картриджи для ТФЭ Sep-Pak Plus Silica (Waters, США) предварительно кондиционировали 2.5 см³ 0.5 М раствора H₂SO₄, 5 см³ деионизированной воды, 2.5 см³ 2%-ного раствора NH₄OH и на последней стадии 5 см³ деионизированной воды. Пробу поверхностной воды объемом 25 см³ помещали в кондиционированный вышеприведенным способом картридж для ТФЭ и элюировали со скоростью 4 см³/мин, после чего картридж сушили током N₂ в течение 15 мин. Полученный концентрат элюировали 2.5 см³ смеси 0.1 М раствора Na₂SO₄ – метанол (1:1 по объему) с pH 2. Полученный элюат высушивали в токе N₂ досуха, добавляли 1 см³ подвижной фазы (А или В) и исследовали методом ВЭЖХ.

2. Результаты и их обсуждение

Для определения содержания дипиридилиевых десикантов применяют различные способы ВЭЖХ либо газовую хроматографию (ГХ), предварительно получая хроматографически лабильные аддукты [18, 19]. Детектирование аналитического сигнала ЧАС осуществляют неселективными детекторами (УФ/ВИД, ПИД и т. д.), а также применяя МС высокого разрешения [20–23]. По сравнению с ГХ, ВЭЖХ способ определения ЧАС представляется менее трудоемким. Идентификацию в ВЭЖХ с УФ-детектированием выполняют по максимумам поглощения в УФ-спектрах при λ 310 нм (дикват) и λ 258 нм (паракват). При этом достоверность оценки количественного содержания дипиридилиевых пестицидов в сложных матрицах, к которым относятся почвы и поверхностные природные воды, напрямую зависит от правильной и надлежащей подготовки проб. В настоящее время для выделения ЧАС из кормов и другой сельскохозяйственной продукции наибольшее распространение получили модификации достаточно трудоемкого способа, основанного на их экстракции горячей разбавленной H₂SO₄, очистке, концентрировании на колонке с катионитом КУ-2-8 и последующем элюировании насыщенным раствором хлорида аммония. Вместе с тем в литературе отсутствуют данные о применении для пробоподготовки технологии QuEChERS; это обусловлено тем, что ЧАС прочно связываются с матрицей и тем самым препятствуют извлечению из нейтральной среды. Данные о применении ТФЭ для извлечения ЧАС из проб различного состава также не многочисленны.

Для определения дипиридилиевых гербицидов в объектах экомониторинга методом ВЭЖХ с УФ-детектированием нами был использован способ с применением ионо-парных реагентов, способствующих успешному разделению диквата и параквата [21–23]. Для детектируемых ЧАС были получены хорошо воспроизводимые симметричные пики со временем удерживания (t_R) 4.2 мин при λ 310 нм и $t_R = 6.2$ мин при λ 258 нм, отвечающие диквату и параквату соответственно. Линейность сигнала диодно-матричного детектора от содержания обсуждаемых ЧАС охватывает диапазон $2.00 \cdot 10^{-3} - 2.00 \cdot 10^{-1}$ мг/кг их содержаний и характеризуется экспериментальными уравнениями регрессии, представленными в табл. 1.

Табл. 1

Аналитические характеристики определения диквата и параквата методом ВЭЖХ с УФ-детектированием

Определяемое соединение	Уравнение регрессии $y = (b \pm S_b) \cdot x + (a \pm S_a)$	R ($n = 10$)	ПРО = $3 \cdot S_d/b$, мг/кг
Дикват	$y = (363.20 \pm 0.23) \cdot x + (1.23 \pm 0.13)$	0.998	$1.00 \cdot 10^{-3}$
Паракват	$y = (629.40 \pm 0.34) \cdot x + (4.14 \pm 0.32)$	0.997	$1.50 \cdot 10^{-3}$

Табл. 2

Аналитические характеристики определения диквата и параквата методом ВЭЖХ-МС

Определяемое соединение	Ион-пре-курсор $[M^{2+}-H^+]^+$, m/z	Уравнение регрессии $y = (b \pm S_b) \cdot x + (a \pm S_a)$	R ($n = 10$)	ПРО = $3 \cdot S_d/b$, мг/кг
Дикват	183	$y = (983.21 \pm 10.12) \cdot x + (0.53 \pm 0.040)$	0.999	$1.00 \cdot 10^{-4}$
Паракват	185	$y = (894.12 \pm 10.73) \cdot x + (0.40 \pm 0.05)$	0.999	$1.70 \cdot 10^{-4}$

Табл. 3

Результаты определения диквата в образцах почвы методом ВЭЖХ с УФ-детектированием ($n = 8$, $P = 0.95$)

Исследуемый образец	Возделываемая культура	Найдено, ($c \pm \delta$), мг/кг	s_r
Почва № 3	Подсолнечник	0.11 ± 0.03	0.050
Почва № 4	Подсолнечник	0.25 ± 0.02	0.040
Почва № 7	Пшеница	0.18 ± 0.02	0.042
Почва № 16	Картофель	0.13 ± 0.03	0.048

В случае применения ВЭЖХ-МС с ESI область линейности расширяется на один порядок и охватывает диапазон $2.00 \cdot 10^{-4} - 2.00 \cdot 10^{-1}$ мг/кг концентраций диквата и параквата. Этот способ, основанный на использовании, кроме параметров удерживания, индивидуальной характеристики – масс-спектра детектируемого соединения, аналитические характеристики которого представлены в табл. 2, применяли в качестве референтного для определения диквата и параквата в исследуемых объектах.

Методом ВЭЖХ с УФ-детектированием было проведено исследование 18 образцов почвы и 6 проб природных поверхностных вод водоемов, прилегающих к сельхозугодиям.

Приведенные в табл. 3 результаты свидетельствуют о том, что в исследованных образцах почвы с полей, на которых возделывали подсолнечник (образцы № 3 и № 4), пшеницу (образец № 7), а также в образце почвы с картофельного поля (образец № 16) обнаружен дикват, наличие которого подтверждено методом ВЭЖХ-МС регистрацией его масс-спектра ESI (рис. 1).

Содержание диквата в трех из представленных на исследование образцах почвы было ниже ориентировочно допустимого уровня [24]. Но его наличие в почве указывает на обработку сельскохозяйственных культур данным гербицидом, например, для борьбы с сорняками или для предуборочной десикации.

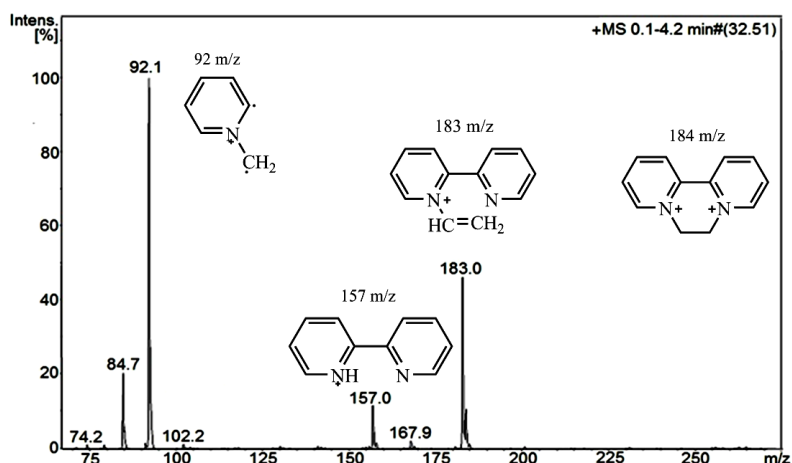


Рис. 1 Масс-спектр ESI диквата, выявленного в образце почвы № 3, и основные направления ионизации его молекулы

Превышение ориентировочно допустимого уровня на 25% было отмечено в одном образце почвы № 4, на котором возделывался подсолнечник. Выявленный факт свидетельствует о несоблюдении уровней концентрации гербицида, необходимых для десикации растений, что может привести к загрязнению почвы сельхозугодий.

В природных поверхностных водах водоемов, расположенных в непосредственной близости от сельхозугодий, в образцах почвы с которых был выявлен дикват, методами ВЭЖХ с УФ-детектированием и ВЭЖХ-МС гербицидов класса ЧАС на уровне чувствительности использованных методов исследования обнаружено не было.

Таким образом, с применением методов ВЭЖХ с УФ-детектированием и ВЭЖХ-МС, а также пробоподготовки почвы и природной поверхностной воды разработаны способы определения гербицидов класса ЧАС в объектах окружающей среды, позволяющие проводить их оперативный контроль на уровне их максимально допустимого уровня в природных объектах.

Благодарности. Авторский коллектив выражает благодарность Испытательному центру ФГБНУ «Федеральный Центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности («ФЦТРБ-ВНИВИ») за предоставленное аналитическое оборудование.

Литература

1. Greenlee A.R., Ellis T.M., Berg R.L. Low-dose agrochemicals and lawn-care pesticides induce developmental toxicity in murine preimplantation embryos // *Environ. Health Perspect.* – 2004. – V. 112, No 6. – P. 703–709. – doi: 10.1289/ehp.6774.
2. Pateiro-Moure M., Arias-Estévez M., Simal-Gandara J. Competitive and non-competitive adsorption/desorption of paraquat, diquat and difenzoquat in vineyard-devoted soils // *J. Hazard. Mater.* – 2010. – V. 178, No 1–3. – P. 194–201. – doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.01.063.

3. *Karuppagounder S.S., Ahuja M., Buabeid M., Parameshwaran K., Abdel-Rehman E., Suppiramaniam V., Dhanasekaran M.* Investigate the chronic neurotoxic effects of diquat // *Neurochem. Res.* – 2012. – V. 35, No 5. – P. 1102–1111. – doi: 10.1007/s11064-012-0715-3.
4. *Rodríguez-Martínez S., Wakamatsu K., Galván I.* Increase of the benzothiazole moiety content of pheomelanin pigment after endogenous free radical inducement // *Dyes Pigm.* – 2020. – V. 180. – Art. 108516, P. 1–4. – doi: 10.1016/j.dyepig.2020.108516.
5. *Jia P., Ji S., Zhang H., Chen Y., Wang T.* Piceatannol ameliorates hepatic oxidative damage and mitochondrial dysfunction of weaned piglets challenged with diquat // *Animals (Basel).* – 2020. – V. 10, No 7. – Art. 1239, P. 1–15. – doi: 10.3390/ani10071239.
6. *García J.J., López-Pingarrón L., Almeida-Souza P., Tres A., Escudero P., García-Gil F.A., Tan D.-X., Reiter R.J., Ramírez J.M., Bernal-Perez M.* Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: A review // *J. Pineal Res.* – 2014. – V. 56, No 3. – P. 225–237. – doi: 10.1111/jpi.12128.
7. *Marklund S., Marklund G.* Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase // *Eur. J. Biochem.* – 1974. – V. 47, No 3. – P. 469–474. – doi: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x.
8. *Franco R., Li S., Rodriguez-Rocha H., Burns M., Panayio M.I.* Molecular mechanisms of pesticide-induced neurotoxicity: Relevance to Parkinson's disease tidis // *Chem.-Biol. Interact.* – 2010. – V. 188, No 2. – P. 289–300. – doi: 10.1016/j.cbi.2010.06.003.
9. *Freire C., Koifman S.* Pesticide exposure and Parkinson's disease: Epidemiological evidence of association // *Neurotoxicology.* – 2012. – V. 33, No 5. – P. 947–971. – doi: 10.1016/j.neuro.2012.05.011.
10. *Bonneh-Barkay D., Reaney S.H., Langston W.J., Di Monte D.A.* Redox cycling of the herbicide paraquat in microglial cultures // *Mol. Brain Res.* – 2005. – V. 134, No 1. – P. 52–56. – doi: 10.1016/j.molbrainres.2004.11.005.
11. *Waring J.F., Jolly R.A., Ciurlionis R., Lum P.Y., Praestgaard J.T., Morfitt D.C., Ulrich R.G.* Clustering of hepatotoxins based on mechanism of toxicity using gene expression profiles // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2001. – V. 175, No 1. – P. 28–42. – doi: 10.1006/taap.2001.9243.
12. *Siroka Z., Svoboda M., Svobodova Z., Nagl I.* A case of diquat poisoning in pigs // *Vet. Med.* – 2019. – V. 64, No 11. – P. 505–511. – doi: 10.17221/87/2019-VETMED.
13. *Sesin V., Dalton R.L., Boutind C., Robinson S.A., Bartlett A.J., Pick F.R.* Macrophytes are highly sensitive to the herbicide diquatdibromide in test systems of varying complexity // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* – 2018. – V. 165. – P. 325–333. – doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.08.033.
14. *Фицев И.М., Шлямина О.В., Мухарлямова А.З., Мохтарова С.Л., Рахметова Э.Р., Мухамметшина А.Г., Насыбуллина Ж.Р.* Хромато-масс-спектрометрический скрининг стойких органических загрязнителей в экомониторинге объектов жизнедеятельности // *Бутлеровские сообщения.* – 2020. – Т. 62, Вып. 6. – С. 89–97. – doi: 10.37952/ROI-jbc-01/20-62-6-89.
15. *Рахметова Э.Р., Фицев И.М., Мухарлямова А.З., Буркин К.Е., Сайфутдинов А.М., Шлямина О.В., Насыбуллина Ж.Р.* Применение высокоэффективной жидкостной хроматографии – времяпролетной масс-спектрометрии для определения неоникотиноидных летальных интоксикантов пчел // *Бутлеровские сообщения.* – 2020. – Т. 63, Вып. 9. – С. 59–67. – doi: 10.37952/ROI-jbc-01/20-63-9-59.
16. *Мухарлямова А.З., Фицев И.М., Рахметова Э.Р., Мухамметшина А.Г., Макаева А.Р., Шлямина О.В., Насыбуллина Ж.Р.* АРІ-мониторинг синтетических пиретроидов методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием // *Бутлеровские сообщения.* – 2020. – Т. 63, Вып. 9. – С. 68–75. – doi: 10.37952/ROI-jbc-01/20-63-9-68.

17. Буркин К.Е., Жилкин М.Е., Лихачева А.Ю., Балымова М.В., Рахметова Э.Р., Мухамметшина А.Г., Фицев И.М. Определение глифосата в меде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Бултеровские сообщения. – 2020. – Т. 63, Вып. 9. – С. 76–82. – doi: 10.37952/ROI-jbc-01/20-63-9-76.
18. Khan S.U. Determination of diquat and paraquat residues in soil by gas chromatography // J. Agric. Food Chem. – 1974. – V. 22, No 5. – P. 863–867. – doi: 10.1021/jf60195a026.
19. Gao L., Liu G., Zhu J., Wang C., Liu J. Solid phase microextraction combined with gas chromatography – mass spectrometry for the determination of diquat residues in water // Anal. Chem. – 2015. – V. 70, No 5. – P. 552–557. – doi: 10.1134/S1061934815050081.
20. Castro R., Moyano E., Galceran M.T. Determination of quaternary ammonium pesticides by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry // J. Chromatogr. A. – 2001. – V. 914, No 1–2. – P. 111–121. – doi: 10.1016/S0021-9673(01)00523-4.
21. Marr J.C., King J.B. A simple high performance liquid chromatography/ion spray tandem mass spectrometry method for the direct determination of paraquat and diquat in water // Rapid Commun. Mass Spectrom. 1997. – V. 11, No 5. – P. 479–483. – doi: 10.1002/(SICI)1097-0231(199703)11:5<479::AID-RCM874>3.0.CO;2-U.
22. de Almeida R.M., Yonamine M. Gas chromatographic–mass spectrometric method for the determination of the herbicides paraquat and diquat in plasma and urine samples // J. Chromatogr. B. – 2007. – V. 853, No 1–2. – P. 260–264. – doi: 10.1016/j.jchromb.2007.03.026.
23. Oh J.-A., Lee J.-B., Lee S.-H., Shin H.-S. Ultra-trace level determination of diquat and paraquat residues in surface and drinking water using ion-pair liquid chromatography with tandem mass spectrometry: A comparison of direct injection and solid-phase extraction methods // J. Sep. Sci. – 2014. – V. 37, No 20. – P. 2900–2910. – doi: 10.1002/jssc.201400551.
24. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень): ГН 1.2.3539-18 // Бюл. нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора. – 2019. – Вып. 3. – С. 7–103.

Поступила в редакцию
04.02.2021

Фицев Игорь Михайлович, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделением токсикологии

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности
ул. Научный городок-2, г. Казань, 420075, Россия
E-mail: fitzev@mail.ru

Лихачева Алена Юрьевна, младший научный сотрудник лаборатории физико-химического и прецизионного анализа

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности
ул. Научный городок-2, г. Казань, 420075, Россия
E-mail: aloyngreen@gmail.com

Сайфутдинов Александр Маратович, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химического и прецизионного анализа

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности
ул. Научный городок-2, г. Казань, 420075, Россия
E-mail: alex.saifutdinov@gmail.com

Мухарлямова Айсылу Завдатовна, научный сотрудник лаборатории физико-химического и прецизионного анализа

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности
ул. Научный городок-2, г. Казань, 420075, Россия
E-mail: muharlyamova82@mail.ru

Мохтарова Сания Лотфулловна, младший научный сотрудник лаборатории физико-химического и прецизионного анализа

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности
ул. Научный городок-2, г. Казань, 420075, Россия
E-mail: *fzhim@vnivi.ru*

Насыбуллина Жанна Равилевна, врио директора

Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности
ул. Научный городок-2, г. Казань, 420075, Россия
E-mail: *vnivi@vnivi.ru*

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2021, vol. 163, no. 1, pp. 61–71

ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2021.1.61-71

**Determination of Diquat and Paraquat
by High Performance Liquid Chromatography in Areas of Environmental Monitoring**

I.M. Fitsev^{*}, *A.Yu. Likhacheva*^{**}, *A.M. Sayfutdinov*^{***}, *A.Z. Mukharlyamova*^{****},
S.L. Mokhtarova^{*****}, *Z.R. Nasybullina*^{*****}

Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, 420075 Russia

E-mail: **fitzev@mail.ru*, ***aloyngreen@gmail.com*, ****alex.saifutdinov@gmail.com*,
*****muharlyamova82@mail.ru*, ******fzhim@vnivi.ru*, ******vnivi@vnivi.ru*

Received February 4, 2021

Abstract

The concentrations of diquat and paraquat, two members of the class of quaternary ammonium compounds (QAC), were measured using high performance liquid chromatography (HPLC) with UV detection and sample preparation with solid phase extraction. The results obtained during the HPLC determination of diquat and paraquat were confirmed by the method of HPLC – quadrupole time-of-flight mass spectrometry (HPLC-MS) with electrospray ionization. Diquat (0.17 ± 0.02 mg/kg on average, i.e., below its maximum permissible level) was found in the soil samples used to cultivate sunflower, wheat, and potato. In the surface waters of the natural water bodies adjacent to the agricultural lands treated with diquat and paraquat, no QAC compounds were found.

Keywords: environmental monitoring of natural areas, quaternary ammonium compounds, diquat, paraquat, high performance liquid chromatography, quadrupole time-of-flight mass spectrometry

Acknowledgments. We are grateful to the Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety for providing us with the analytical equipment used in this study.

Figure Captions

Fig. 1. ESI mass spectrum of diquat in soil sample no. 3, main ionization routes of its molecule.

References

1. Greenlee A.R., Ellis T.M., Berg R.L. Low-dose agrochemicals and lawn-care pesticides induce developmental toxicity in murine preimplantation embryos. *Environ. Health Perspect.*, 2004, vol. 112, no. 6, pp. 703–709. doi: 10.1289/ehp.6774.

2. Pateiro-Moure M., Arias-Estévez M., Simal-Gándara J. Competitive and non-competitive adsorption/desorption of paraquat, diquat and difenzoquat in vineyard-devoted soils. *J. Hazard. Mater.*, 2010, vol. 178, nos. 1–3, pp. 194–201. doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.01.063.
3. Karuppagounder S.S., Ahuja M., Buabeid M., Parameshwaran K., Abdel-Rehman E., Suppiramaniam V., Dhanasekaran M. Investigate the chronic neurotoxic effects of diquat. *Neurochem. Res.*, 2012, vol. 35, no. 5, pp. 1102–1111. doi: 10.1007/s11064-012-0715-3.
4. Rodríguez-Martínez S., Wakamatsu K., Galván I. Increase of the benzothiazole moiety content of pheomelanin pigment after endogenous free radical inducement. *Dyes Pigm.*, 2020, vol. 180, art. 108516, pp. 1–4. doi: 10.1016/j.dyepig.2020.108516.
5. Jia P., Ji S., Zhang H., Chen Y., Wang T. Piceatannol ameliorates hepatic oxidative damage and mitochondrial dysfunction of weaned piglets challenged with diquat. *Animals (Basel)*, 2020, vol. 10, no. 7, art. 1239, pp. 1–15. doi: 10.3390/ani10071239.
6. García J.J., López-Pingarrón L., Almeida-Souza P., Tres A., Escudero P., García-Gil F.A., Tan D.-X., Reiter R.J., Ramírez J.M., Bernal-Perez M. Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: A review. *J. Pineal Res.*, 2014, vol. 56, no. 3, pp. 225–237. doi: 10.1111/jpi.12128.
7. Marklund S., Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 1974, vol. 47, no. 3, pp. 469–474. doi: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x.
8. Franco R., Li S., Rodríguez-Rocha H., Burns M., Panayio M.I. Molecular mechanisms of pesticide-induced neurotoxicity: Relevance to Parkinson's disease tidis. *Chem.-Biol. Interact.*, 2010, vol. 188, no. 2, pp. 289–300. doi: 10.1016/j.cbi.2010.06.003.
9. Freire C., Koifman S. Pesticide exposure and Parkinson's disease: Epidemiological evidence of association. *Neurotoxicology*, 2012, vol. 33, no. 5, pp. 947–971. doi: 10.1016/j.neuro.2012.05.011.
10. Bonne-Barkay D., Reaney S.H., Langston W.J., Di Monte D.A. Redox cycling of the herbicide paraquat in microglial cultures. *Mol. Brain Res.*, 2005, vol. 134, no. 1, pp. 52–56. doi: 10.1016/j.molbrainres.2004.11.005.
11. Waring J.F., Jolly R.A., Ciurlionis R., Lum P.Y., Praestgaard J.T., Morfitt D.C., Ulrich R.G. Clustering of hepatotoxins based on mechanism of toxicity using gene expression profiles. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2001, vol. 175, no. 1, pp. 28–42. doi: 10.1006/taap.2001.9243.
12. Siroka Z., Svoboda M., Svobodova Z., Nagl I. A case of diquat poisoning in pigs. *Vet. Med.*, 2019, vol. 64, no. 11, pp. 505–511. doi: 10.17221/87/2019-VETMED.
13. Sesin V., Dalton R.L., Boutind C., Robinson S.A., Bartlett A.J., Pick F.R. Macrophytes are highly sensitive to the herbicide diquatdibromide in test systems of varying complexity. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2018, vol. 165, pp. 325–333. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.08.033.
14. Fitsev I.M., Shlyamina O.V., Mukharlyamova A.Z., Mokhtarova S.L., Rakhmetova E.R., Mukhammetshina A.G., Nasybullina Z.R. Gas chromatography–mass spectrometry screening of persistent organic pollutants in environmental monitoring of entities ensuring vital activities of the population. *Butlerovskie Soobshch.*, 2020, vol. 62, no. 6, pp. 89–97. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/20-62-6-89. (In Russian)
15. Rakhmetova E.R., Fitsev I.M., Mukharlyamova A.Z., Burkin K.E., Sayfutdinov A.M., Shlyamina O.V., Nasybullina Z.R. Using high-performance liquid chromatography–time-of-flight mass spectrometry to identify neonicotinoid intoxicants that are lethal to bees. *Butlerovskie Soobshch.*, 2020, vol. 63, no. 9, pp. 59–67. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/20-63-9-59. (In Russian)
16. Mukharlyamova A.Z., Fitsev I.M., Rakhmetova E.R., Mukhammetshina A.G., Makaeva A.R., Shlyamina O.V., Nasybullina Z.R. API-monitoring of synthetic pyrethroids by gas chromatography with mass spectrometric detection. *Butlerovskie Soobshch.*, 2020, vol. 63, no. 9, pp. 68–75. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/20-63-9-68. (In Russian)
17. Burkin K.E., Zhilkin M.E., Likhacheva A.Yu., Balymova M.V., Rakhmetova E.R., Mukhammetshina A.G., Fitsev I.M. Measuring glyphosate concentration in honey by high-performance liquid chromatography. *Butlerovskie Soobshch.*, 2020, vol. 63, no. 9, pp. 76–82. doi: 10.37952/ROI-jbc-01/20-63-9-76. (In Russian)
18. Khan S.U. Determination of diquat and paraquat residues in soil by gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, 1974, vol. 22, no. 5, pp. 863–867. doi: 10.1021/jf60195a026.

19. Gao L., Liu G., Zhu J., Wang C., Liu J. Solid phase microextraction combined with gas chromatography – mass spectrometry for the determination of diquat residues in water. *Anal. Chem.*, 2015, vol. 70, no. 5, pp. 552–557. doi: 10.1134/S1061934815050081.
20. Castro R., Moyano E., Galceran M.T. Determination of quaternary ammonium pesticides by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 2001, vol. 914, nos. 1–2, pp. 111–121. doi: 10.1016/S0021-9673(01)00523-4.
21. Marr J.C., King J.B. A simple high performance liquid chromatography/ion-spray tandem mass spectrometry method for the direct determination of paraquat and diquat in water. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 1997, vol. 11, no. 5, pp. 479–483. doi: 10.1002/(SICI)1097-0231(199703)11:5<479::AID-RCM874>3.0.CO;2-U.
22. de Almeida R.M., Yonamine M. Gas chromatographic–mass spectrometric method for the determination of the herbicides paraquat and diquat in plasma and urine samples. *J. Chromatogr. B*, 2007, vol. 853, nos. 1–2, pp. 260–264. doi: 10.1016/j.jchromb.2007.03.026.
23. Oh J.-A., Lee J.-B., Lee S.-H., Shin H.-S. Ultra-trace level determination of diquat and paraquat residues in surface and drinking water using ion-pair liquid chromatography with tandem mass spectrometry: A comparison of direct injection and solid-phase extraction methods. *J. Sep. Sci.*, 2014, vol. 37, no. 20, pp. 2900–2910. doi: 10.1002/jssc.201400551.
24. Hygienic standards for the content of pesticides in the areas of natural environment (list): GN 1.2.3539-18. *Byull. Norm. Metod. Dokumentov Gossanepidnadzora*, 2019, no. 3, pp. 7–103. (In Russian)

Для цитирования: Фицев И.М., Лихачева А.Ю., Сайфутдинов А.М., Мухарлямова А.З., Мохтарова С.Л., Насыбуллина Ж.Р. Определение диквата и параквата методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в объектах экомониторинга // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2021. – Т. 163, кн. 1. – С. 61–71. – doi: 10.26907/2542-064X.2021.1.61-71.

For citation: Fitsev I.M., Likhacheva A.Yu., Sayfutdinov A.M., Mukharlyamova A.Z., Mokhtarova S.L., Nasybullina Z.R. Determination of diquat and paraquat by high performance liquid chromatography in areas of environmental monitoring. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki*, 2021, vol. 163, no. 1, pp. 61–71. doi: 10.26907/2542-064X.2021.1.61-71. (In Russian)