

УДК 615.1, 615.074

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕВЯТИ ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ

© 2024 г. О. В. Фатеенкова<sup>a,\*</sup>, А. М. Савватеев<sup>a,\*\*</sup>, А. В. Браун<sup>b</sup>,  
В. Л. Белобородов<sup>a</sup>, И. В. Гравель<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования  
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова

Минздрава России (Сеченовский университет)

ул. Трубецкая, 8, стр. 2, 119991 Москва, Россия

<sup>b</sup>27 Научный Центр Министерства обороны Российской Федерации

Бригадирский переулок, 13, 105005 Москва, Россия

\*E-mail: Fateenkova-Olga@mail.ru

\*\*E-mail: Savvateev\_A\_M@staff.sechenov.ru

Поступила в редакцию 14.12.2023 г.

После доработки 14.02.2024 г.

Принята к публикации 15.02.2024 г.

Разработана методика одновременного определения фосфорорганических пестицидов (ФОП) диазинона, диметоата, ометоата, пиримифос-метила, пиримифос-этила, малатиона, малаоксона, хлорпирифос-метила, фозалона в лекарственном растительном сырье методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения. В методике используется экспрессный способ подготовки проб путем экстракции ацетонитрилом измельченного растительного сырья. Оптимизированы условия анализа в варианте обращенно-фазовой хроматографии. Определение осуществляется методом внутреннего стандарта с использованием дейтерированных стандартов малатион-d6 и дихлорфос-d6 на основе двух наиболее интенсивных, специфичных для каждого индивидуального ФОП, ионных реакций. Методика апробирована на примере растительного сырья – корневищ с корнями валерианы лекарственной (*Rhizomata cum radicibus Valerianae officinalis*) и валидирована по параметрам: специфичность, линейность, правильность, аналитическая область, предел количественного определения, прецизионность, матричный эффект. Предложенная методика может быть использована для определения указанных ФОП в широком диапазоне концентраций от 0.01 до 10 000 нг/г сырья в лекарственном и сельскохозяйственном растениеводстве.

**Ключевые слова:** фосфорорганические пестициды, лекарственное растительное сырье, масс-спектрометрия высокого разрешения, высокоэффективная жидкостная хроматография, валидация.

DOI: 10.31857/S0044450224080104, EDN: tjdxxa

Фосфорорганические пестициды (ФОП) широко применяются на всех этапах выращивания растений. С 1960-х гг. они пришли на смену персистентным хлорорганическим пестицидам, которые являются популярным и востребованным классом современных пестицидов [1, 2].

В литературе практически отсутствуют сведения о том, насколько широко и в каких объемах применяется тот или иной конкретный представитель группы ФОП производителями и поставщиками лекарственного растительного сырья и сельхозпродукции. Отсутствуют также

статистические данные о том, в каких регионах и в каких количествах на территории Российской Федерации применяются ФОП. То же самое относится и к поставщикам сырья из других стран.

Используемые в настоящей работе в качестве объектов анализа девять ФОП доступны на рынке пестицидов и имеют низкую стоимость, поэтому высока вероятность их широкого применения при выращивании лекарственного растительного сырья (ЛРС) и сельхозпродукции.

Известно, что даже при соблюдении сельскохозяйственных и производственных норм

обработки ФОП могут оставаться в обрабатываемых растениях, а также поступать в атмосферу, почву и водоемы [3–5]. Некоторые ФОП обладают высокой персистентностью, способны оставаться в неизменном состоянии и сохранять свою токсичность в течение длительного времени [6]. Кроме того, существует опасность попадания пестицидов в организм человека [7, 8]. Одним из источников токсичных ФОП может являться ЛРС, входящее в состав лекарственных препаратов и БАД [9, 10]. Известно, что растения способны кумулировать пестициды, поэтому возможность обнаружения и определения низких концентраций ФОП позволяет в течение длительного времени отслеживать “жизненный цикл” ФОП в растениях и вырабатывать дополнительные рекомендации по их безопасному применению.

В Государственной фармакопее (ГФ) РФ XV [11] нормируются 33 ФОП, при этом их пределы допустимого содержания коррелируют между собой в фармакопеях России, Европы [12] и США [13]. В настоящее время в ГФ РФ XV регламентированы методы определения только хлорорганических пестицидов, а действующие фармакопеи ЕР 10 и USP 42 NF-37 отошли от регламентирования унифицированных методик определения ФОП в ЛРС и предлагают использовать любой метод определения ФОП в ЛРС, удовлетворяющий критериям соответствующих общих фармакопейных статей (ОФС) и валидированный в соответствии с SANCO/10232/2006 [14] (для ЕР 11) или SANTE/11813/2017 [15] и OPPTS 860.1490 [16] (для USP 45 NF-40).

До недавнего времени при определении ФОП наиболее часто использовали метод газовой хроматографии (ГХ) в сочетании с пламенно-ионизационным, азотно-фосфорным или атомно-эмиссионным детектором с использованием внутренних стандартов (ВС) [17–20]. Поскольку ФОП – это полярные и слаболетучие соединения, их определение с помощью ГХ часто включает процедуру дериватизации. Для прямого определения полярных, слаболетучих соединений с низкой термической стабильностью предпочтительнее использование высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС). Кроме того, этот метод является одним из самых чувствительных и селективных, что позволяет определять низкие концентрации остаточных ФОП в ЛРС и пищевых продуктах.

Для повышения точности анализа развиваются направления с применением дейтерированных ВС [21, 22]. Такой подход позволяет учитывать возможные потери аналитов при подготовке проб и хроматографировании, так как потери дейтерированных аналогов полностью сопоставимы с потерями определяемых веществ. Применение при анализе дейтерированных ВС

нивелирует влияние матричного эффекта, являющегося валидационным параметром в фармакопеях Европы и США.

Описаны способы определения ФОП в лекарственных растениях методами газовой хромато-масс-спектрометрии [23, 24] и ВЭЖХ-МС [25, 26]. В большинстве из них для пробоподготовки используется метод твердофазной экстракции QuEChERS в различных вариациях. Масс-спектрометрия высокого разрешения с использованием дейтерированных ВС позволяет сократить процесс подготовки проб и избежать трудоемких манипуляций при подготовке ЛРС к анализу.

Перечень пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, представлен в государственном каталоге [27], где ограничено применение персистентных хлорорганических пестицидов. Перечень включает девять ФОП: диазинон, диметоат, ометоат, пиримифос-метил, пиримифос-этил, малатион, малаоксон, хлорпирифос-метил, фозалон, которые мы выбрали в качестве образцов для настоящего исследования (схема 1).

Цель данной работы – разработка и валидация методики одновременного определения девяти ФОП, позволяющей определять остаточные содержания ФОП в ЛРС и лекарственных препаратах растительного происхождения.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Объекты исследования.** Образцы ЛРС – корневища с корнями валерианы лекарственной (*Rhizomata cum radicibus Valerianae officinalis*), приобретенные в аптеке (АО “Красногорсклекарства”, Россия, серия 10123). Стандартные образцы диазинона (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 74332), диметоата (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 45449), ометоата (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 36181), пиримифос-метила (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 32058), пиримифос-этила (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 45628), малатиона (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 36143), малаоксона (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 36142), хлорпирифос-метила (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 45395), фозалона (Supelco (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 36194). Предварительно мы синтезировали и охарактеризовали дейтерированные стандарты малатион-d6 и дихлорфос-d6 [28].

**Растворы и реагенты.** Реактивы: ацетонитрил HPLC-grade (CarloErba, Германия, Cat. № 7), деионизованная вода после очистки системой Milli-Q (Millipore, США), муравьиная кислота (Merck (Sigma-Aldrich), США, Cat. № 1.00263).

Рабочие растворы готовили растворением точных навесок ФОП в ацетонитриле в день

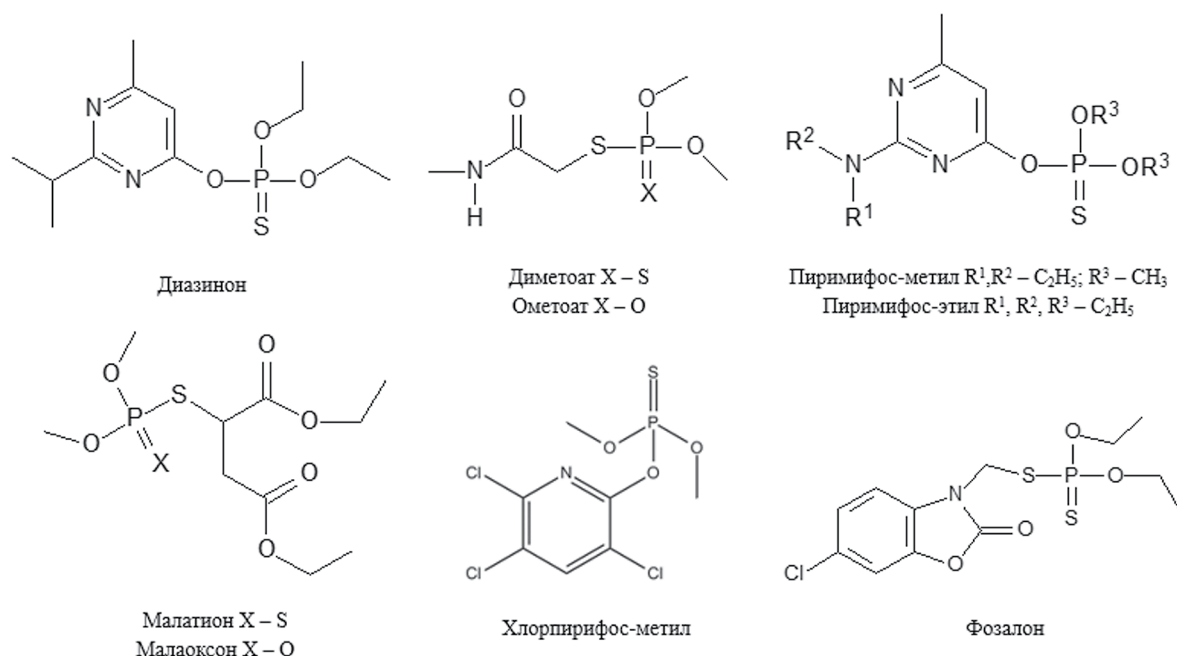


Схема 1. Структурные формулы фосфорорганических пестицидов.

проведения анализа в диапазоне концентраций от 0.05 до 10 000 нг/мл.

Испытуемые образцы корневищ с корнями валерианы с введенными ФОП готовили из рабочих растворов ФОП в диапазоне концентраций от 0.01 до 10 000 нг/г.

**Оборудование.** Использовали аналитическую станцию, состоящую из жидкостного хроматографа Dionex Ultimate 3000 RSLC (Thermo Scientific, США), оборудованного системой автоматического ввода пробы, с масс-селективным тандемным анализатором высокого разрешения Orbitrap Fusion Lumos (Thermo Scientific, США) с источником ионов и ионизацией электрораспылением. Для разделения аналитов использовали хроматографическую колонку Zorbax 300SB-C18 (Agilent Technologies, США). Экспериментальные данные регистрировали и обрабатывали с помощью программных пакетов Xcalibur (Thermo Scientific, США).

**Методика определения фосфорорганических пестицидов в лекарственном растительном сырье.** При разработке методики с целью повышения точности идентификации и определения содержания выбранных ФОП, а также для построения градуировочных зависимостей использовали предварительно синтезированные дейтерированные ВС малатион-d6 и дихлорфос-d6 [28].

**Пробоподготовка.** На аналитических весах взвешивали 1 г (точная навеска) измельченного в лабораторной мельнице растительного сырья, проходящего через сито 1 мм, добавляли 5 мл ацетонитрила, содержащего дейтерированные

ВС (500 нг/мл малатион-d6, 500 нг/мл дихлорфос-d6), перемешивали в течение 4 мин при 500 об/мин. Далее центрифугировали при 5500 об/мин в течение 5 мин, надосадочную жидкость пропускали через шприцевой фильтр для микрофильтрации ПТФЭ с размером пор 0.20 мкм. Органический экстракт переносили в стеклянную вialу емк. 2 мл.

Определяемые ФОП разделяли в режиме градиентного элюирования, скорость подвижной фазы 0.35 мл/мин, температура термостата колонки 40°C. Подвижная фаза А – 0.1 об. % НСООН в воде, подвижная фаза Б – ацетонитрил. Программа градиентного элюирования: 0–2 мин: 95% А; 2–10 мин: 5–95% Б; 10–11 мин: 95% Б; 11–15 мин: 95% А. Объем вводимой пробы составлял 0.01 мл.

Использовали электрораспылительную ионизацию в режиме регистрации положительно заряженных ионов аналитов (ФОП). Величина разрешения масс-анализатора составляла не менее 30 000 в режиме МС/МС.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимальные условия детектирования ФОП представлены в табл. 1. Температура входного ионного капилляра составляла 325°C, температура газа-осушителя – 350°C, скорость подачи обдувочного газа составляла 50 усл. ед. (согласно номенклатуре производителя), вспомогательного газа – 10 усл. ед. (согласно номенклатуре производителя) и продувочного газа – 1 усл. ед.

**Таблица 1.** Оптимальные условия одновременного детектирования фосфорорганических пестицидов с использованием электрораспылительной ионизации в режиме регистрации положительных ионов

| Пестицид          | Ионная реакция         | Оптимальный режим фрагментации | Энергия фрагментации, В |
|-------------------|------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| Диазинон          | 305.1083 => 169.0794*  | HCD                            | 35                      |
|                   | 305.1083 => 153.1022** | HCD                            | 35                      |
| Диметоат          | 230.0069 => 198.9647*  | HCD                            | 10                      |
|                   | 230.0069 => 170.9698** | HCD                            | 20                      |
| Ометоат           | 214.0297 => 182.9875*  | CID                            | 40                      |
|                   | 214.0297 => 196.0192** | HCD                            | 15                      |
| Пиримифос-этил    | 334.1349 => 198.1059*  | HCD                            | 35                      |
|                   | 334.1349 => 182.1288** | HCD                            | 35                      |
| Пиримифос-метил   | 306.1036 => 278.0723*  | CID                            | 40                      |
|                   | 306.1036 => 164.1182** | HCD                            | 35                      |
| Малатион          | 331.0433 => 285.0015*  | CID                            | 25                      |
|                   | 331.0433 => 127.0390** | HCD                            | 15                      |
| Малаоксон         | 315.0662 => 127.0390*  | HCD                            | 15                      |
|                   | 315.0662 => 269.0243** | CID                            | 20                      |
| Хлорпирифос-метил | 321.9023 => 289.8760*  | CID                            | 25                      |
|                   | 321.9023 => 124.9821** | HCD                            | 25                      |
| Фозалон           | 368.9941 => 322.0064*  | CID                            | 20                      |
|                   | 368.9941 => 182.0003** | HCD                            | 25                      |
| Малатион D6       | 337.081 => 291.0391*   | CID                            | 25                      |
| Дихлорфос D6      | 226.9908 => 133.0530** | HCD                            | 30                      |

\*Ионная реакция для определения содержания, \*\*ионная реакция для подтверждения присутствия.

(согласно номенклатуре производителя), в работе источника ионизации использовали азот в качестве газа-носителя. Напряжение на распыляющем капилляре составляло 3500 В. Масс-спектры фрагментации получали в варианте диссоциации, вызванной соударениями (CID) и высокоэнергетической диссоциации (HCD). При выборе ионных реакций выбирали две наиболее интенсивные, полученные для этих вариантов диссоциации.

В процессе разработки методики выбирали и оптимизировали условия масс-спектрометрического детектирования в режиме сканирования фрагментных ионов, образующихся в результате фрагментации ионов-предшественников аналитов.

**Выбор условий масс-спектрометрического детектирования.** Исследуемые ФОП (схема 1) имеют в своей структуре полярные и основные группы, а также донорно-акцепторные центры. За счет наличия в структуре атомов азота, кислорода и серы молекулы ФОП легко протонируются, образуя положительно заряженные ионы в слабокислой среде, поэтому в ходе выбора условий масс-спектрометрического детектирования использовали электрораспылительную

ионизацию в режиме регистрации положительно заряженных ионов. В результате анализа масс-спектров выбрали ионные реакции, приводящие к наиболее интенсивным и устойчивым фрагментным ионам. Условия одновременного детектирования ФОП оптимизировали в режиме прямого ввода раствора стандарта исследуемых ФОП (раствор с содержанием каждого пестицида 1 мкг/мл в воде) непосредственно в источник ионов.

Для исследования параметров, отвечающих за настройки работы масс-детектора, напряжения на входной линзе при настройке ионной оптики “нулевого” квадруполя и энергии фрагментации в ячейке соударений, использовали типичные параметры работы масс-спектрометрического детектора, рекомендуемые производителем и прописанные в файле автоматической настройки системы – автотюнинга. Напряжение на входной линзе варьировали в диапазоне 10–90 В. Для каждого ФОП использовали два типа энергии фрагментации – CID и HCD. Оптимальное напряжение на входной линзе для каждого ФОП представлено в табл. 1. Условия масс-спектрометрического детектирования выбранных ФОП приведены в табл. 2.

**Таблица 2.** Условия масс-спектрометрического детектирования выбранных фосфорорганических пестицидов и их дейтерированных аналогов

| Параметр                                                          | Оптимизированное значение                       |
|-------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Температура газа-осушителя, °C                                    | 350                                             |
| Температура входного ионного капилляра, °C                        | 325                                             |
| Скорость подачи газа-осушителя, усл. ед.                          | 50                                              |
| Скорость подачи газа-распылителя через иглу небулайзера, усл. ед. | 10                                              |
| Напряжение источника ионизации, В                                 | 3 500                                           |
| Напряжение на линзе                                               | Для каждого соединения устанавливается отдельно |
| Энергия фрагментации                                              | Для каждого соединения устанавливается отдельно |
| Ион – предшественник                                              | Для каждого соединения устанавливается отдельно |
| Диапазон сканирования, $m/z$                                      | 80–350                                          |
| Время сканирования, мс                                            | 22 для каждой ионной реакции                    |
| Разрешение масс-спектрометра                                      | 30 000                                          |
| Полярность регистрируемых ионов                                   | Положительные                                   |

На следующем этапе для ионных MRM-переходов определяемых ФОП выбирали пики ионов, имеющие наибольшую интенсивность в масс-спектрах фрагментации протонированных

молекул аналитов. В качестве ионов-прекурсоров выбрали протонированные молекулярные ионы. В табл. 3 приведены наиболее интенсивные пики, полученные в режиме сканирования.

**Таблица 3.** Наблюдаемая фрагментация протонированных молекулярных ионов фосфорорганических пестицидов и их молекулярные формулы (фрагментация в режимах CID = 25, HCD = 25)

| Элементный состав | $m/z_{\text{теор}}$ | $m/z_{\text{набл}}$ | $\Delta m/z$ , млн <sup>-1</sup> | Интенсивность, % |
|-------------------|---------------------|---------------------|----------------------------------|------------------|
| Диазинон CID      |                     |                     |                                  |                  |
| C8H13N2S          | 169.0794            | 169.0792            | –0.22                            | 75.29            |
| C8H13ON2          | 153.1022            | 153.1021            | –0.17                            | 36.93            |
| C10H18O3N2PS      | 277.077             | 277.0772            | 0.21                             | 2.7              |
| Диазинон HCD      |                     |                     |                                  |                  |
| C8H13N2S          | 169.0794            | 169.0793            | –0.1                             | 100              |
| C8H13ON2          | 153.1022            | 153.1021            | –0.1                             | 50.35            |
| H4O3PS            | 114.9613            | 114.9613            | –0.04                            | 6.54             |
| Диметоат CID      |                     |                     |                                  |                  |
| C4H8O3PS2         | 198.9647            | 198.9648            | 0.05                             | 100              |
| C3H8O2PS2         | 170.9698            | 170.9699            | 0.13                             | 1.92             |
| C4H9O2NPS2        | 197.9807            | 197.9815            | 0.79                             | 1.26             |
| Диметоат HCD      |                     |                     |                                  |                  |
| C2H8O3PS          | 142.9926            | 142.9924            | –0.21                            | 100              |
| C3H8O2PS2         | 170.9698            | 170.9696            | –0.16                            | 83.08            |
| C4H8O3PS2         | 198.9647            | 198.9646            | –0.08                            | 35.51            |

Таблица 3. Продолжение

| Элементный состав     | $m/z_{\text{теор}}$ | $m/z_{\text{набл}}$ | $\Delta m/z$ , млн <sup>-1</sup> | Интенсивность, % |
|-----------------------|---------------------|---------------------|----------------------------------|------------------|
| Ометоат CID           |                     |                     |                                  |                  |
| C4H8O4PS              | 182.9875            | 182.9873            | -0.25                            | 100              |
| C5H11O3NPS            | 196.0192            | 196.019             | -0.18                            | 18.74            |
| C2H8O3PS              | 142.9926            | 142.9925            | -0.15                            | 3.51             |
| Ометоат HCD           |                     |                     |                                  |                  |
| C2H8O3PS              | 142.9926            | 142.9924            | -0.2                             | 100              |
| C4H8O4PS              | 182.9875            | 182.9874            | -0.1                             | 39.53            |
| C3H8O3PS              | 154.9926            | 154.9924            | -0.18                            | 33.32            |
| Пиримифос-этил CID    |                     |                     |                                  |                  |
| C11H21O3N3PS          | 306.1036            | 306.1041            | 0.52                             | 45.36            |
| C9H16N3S              | 198.1059            | 198.1059            | 0                                | 71.4             |
| C9H16ON3              | 182.1288            | 182.1288            | 0                                | 17.83            |
| Пиримифос-этил HCD    |                     |                     |                                  |                  |
| C9H16N3S              | 198.1059            | 198.1059            | -0.03                            | 100.00           |
| C9H16ON3              | 182.1288            | 182.1288            | 0.03                             | 28.27            |
| C11H21O3N3PS          | 306.1036            | 306.1042            | 0.61                             | 18.32            |
| Пиримифос-метил CID   |                     |                     |                                  |                  |
| C9H17O3N3PS           | 278.0723            | 278.0726            | 0.36                             | 9.46             |
| C9H14N3               | 164.1182            | 164.1182            | -0.03                            | 7.53             |
| C10H17O2N3PS          | 274.0774            | 274.0778            | 0.4                              | 5.06             |
| Пиримифос-метил HCD   |                     |                     |                                  |                  |
| C9H14N3               | 164.1182            | 164.1181            | -0.09                            | 17.55            |
| C9H17O3N3PS           | 278.0723            | 278.0727            | 0.42                             | 5.06             |
| C10H17O2N3PS          | 274.0774            | 274.0778            | 0.46                             | 2.22             |
| Малатион CID          |                     |                     |                                  |                  |
| C8H14O5PS2            | 285.0015            | 285.0019            | 0.41                             | 100              |
| C6H7O3                | 127.039             | 127.0388            | -0.12                            | 14.07            |
| C4H3O3                | 99.0077             | 99.0076             | -0.12                            | 3.73             |
| Малатион HCD          |                     |                     |                                  |                  |
| C4H3O3                | 99.0077             | 99.0076             | -0.11                            | 100              |
| C6H7O3                | 127.039             | 127.0388            | -0.13                            | 78.88            |
| C2H8O3PS              | 142.9926            | 142.9925            | -0.1                             | 25.42            |
| Малаоксон CID         |                     |                     |                                  |                  |
| C6H7O3                | 127.039             | 127.0388            | -0.16                            | 100              |
| C8H14O6PS             | 269.0243            | 269.0246            | 0.31                             | 63.77            |
| C4H3O3                | 99.0077             | 99.0076             | -0.09                            | 58.99            |
| Малаоксон HCD         |                     |                     |                                  |                  |
| C4H3O3                | 99.0077             | 99.0076             | -0.11                            | 100              |
| C6H7O3                | 127.039             | 127.0388            | -0.13                            | 72.99            |
| C2H8O3PS              | 142.9926            | 142.9925            | -0.09                            | 18.5             |
| Хлорпирифос-метил CID |                     |                     |                                  |                  |
| C6H4O2NCI3PS          | 289.876             | 289.8765            | 0.45                             | 100              |

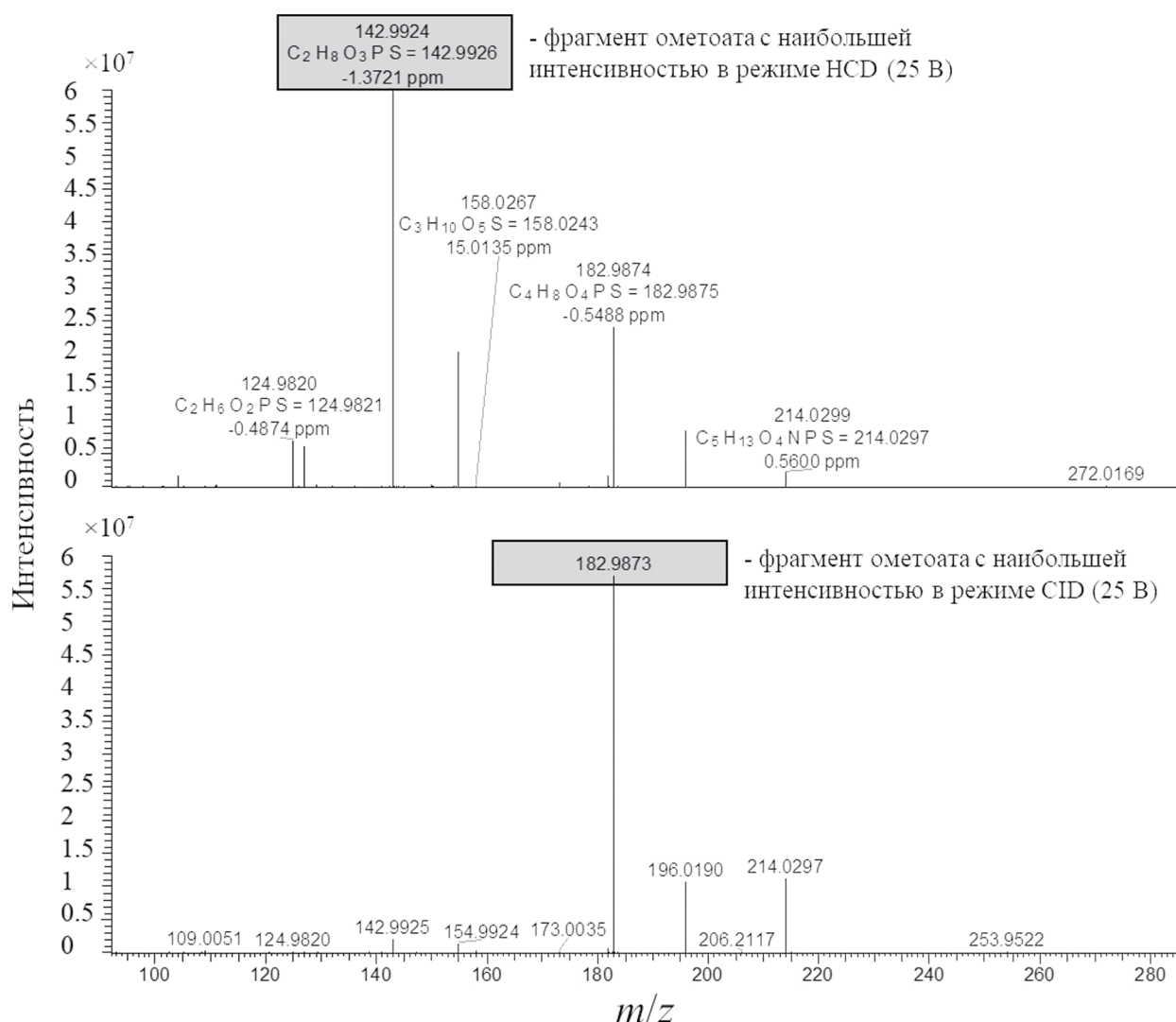
Таблица 3. Продолжение

| Элементный состав     | $m/z_{\text{теор}}$ | $m/z_{\text{набл}}$ | $\Delta m/z$ , $\text{млн}^{-1}$ | Интенсивность, % |
|-----------------------|---------------------|---------------------|----------------------------------|------------------|
| C2H8O3PS              | 142.9926            | 142.9925            | –0.12                            | 3.67             |
| C2 H6 O2PS            | 124.9821            | 124.9819            | –0.14                            | 1.12             |
| Хлорпирифос-метил HCD |                     |                     |                                  |                  |
| C2H8O3PS              | 142.9926            | 142.9925            | –0.14                            | 100              |
| C6H4O2NCI3PS          | 289.876             | 289.8765            | 0.45                             | 48.23            |
| C2H6O2PS              | 124.9821            | 124.9819            | –0.13                            | 9.76             |
| Фозалон CID           |                     |                     |                                  |                  |
| C11H14O4NCIPS         | 322.0064            | 322.0068            | 0.42                             | 100              |
| C8H5O2NCI             | 182.0003            | 182.0003            | –0.04                            | 35.91            |
| C10H10O3NCIPS2        | 321.9523            | 321.9524            | 0.12                             | 8.07             |
| Фозалон HCD           |                     |                     |                                  |                  |
| C8H5O2NCI             | 182.0003            | 182.0003            | –0.03                            | 100              |
| H4O3PS                | 114.9613            | 114.9613            | –0.06                            | 11.6             |
| C10H15O3NCIPS2        | 326.9914            | 327.0783            | 86.91                            | 4.21             |
| Малатион-d6 CID       |                     |                     |                                  |                  |
| C8H8[2]H6O5PS2        | 291.0391            | 291.0393            | 0.17                             | 100              |
| C6H7O3                | 127.039             | 127.0389            | –0.08                            | 11.16            |
| C4H3O3                | 99.0077             | 99.0076             | –0.06                            | 3.08             |
| Малатион-d6 HCD       |                     |                     |                                  |                  |
| C4H3O3                | 99.0077             | 99.0075             | –0.13                            | 100              |
| C6H7O3                | 127.039             | 127.0388            | –0.17                            | 82.03            |
| C5H2[2]H6O3PS2        | 217.0024            | 217.0023            | –0.04                            | 19.32            |
| Дихлорфос-d6 CID      |                     |                     |                                  |                  |
| C2H2[2]H6O4P          | 133.0531            | 133.0529            | –0.2                             | 79.23            |
| C2H[2]H6O3ClP         | 151.0192            | 151.0191            | –0.19                            | 39.14            |
| C3[2]H6O2Cl           | 115.0427            | 115.0429            | 0.15                             | 0.16             |
| Дихлорфос-d6 HCD      |                     |                     |                                  |                  |
| C2H2[2]H6O4P          | 133.0531            | 133.0529            | –0.23                            | 100              |
| C2H[2]H6O3ClP         | 151.0192            | 151.0191            | –0.14                            | 7.07             |
| C3[2]H6O2Cl           | 115.0427            | 115.0428            | 0.1                              | 0.07             |

Для ометоата, малаоксона, хлорпирифос-метила, малатиона, пиримифос-метила и фозалона оптимальный режим фрагментации для двух ионных реакций не совпадает. Так, на рис. 1 в качестве примера представлены масс-спектры фрагментаций молекулярных ионов ометоата, полученные в режиме высокого разрешения в вариантах CID и HCD. Фрагмент для определения содержания 182.9875 характеризуется более высокой интенсивностью в режиме CID, а фрагмент для подтверждения присутствия 196.0192, наоборот, лучше проявляется в режиме

HCD-фрагментации. На основании полученных данных для каждого ФОП выбрали по две наиболее интенсивные ионные реакции. В табл. 1 представлены выбранные наиболее интенсивные реакции для каждого ФОП и ВС (дейтерированных аналогов).

**Выбор условий хроматографического разделения.** Установили, что в качестве неподвижной фазы при определении ФОП в ЛРС оптимально использование колонки Agilent Zorbax 300SB-C18, 100 мм × 2.1 мм с диаметром зерна сорбента 3.5 мкм.



**Рис. 1.** Масс-спектры фрагментаций протонированного молекулярного иона ометоата с  $m/z$  214.0297, полученные в вариантах CID (25 В) и HCD (25 В). Режим регистрации положительных заряженных ионов.

Для разделения ФОП использовали подвижную фазу, состоящую из ацетонитрила и 0.1%-ного раствора водной муравьиной кислоты. Использование муравьиной кислоты способствует наименьшему размыванию пиков ФОП. В табл. 4 представлены условия и параметры хроматографического разделения ФОП. Расчетная величина мертвого времени составляет 0.7 мин. В табл. 5 приведены параметры хроматографического разделения ФОП в выбранных условиях.

В качестве критерия присутствия ФОП в пробах использовали относительное время удерживания и представленные в табл. 1 ионные реакции (совпадение двух выбранных ионов из масс-спектров фрагментации протонированных молекул аналитов, соответствующих определяемому компоненту).

**Оптимизация процедуры подготовки проб.** Распространенным способом подготовки

образцов при определении ФОП является система QuEChERS, разработанная в 2003 г. для анализа пищевых продуктов [29]. Для достижения удовлетворительных результатов определения ФОП проанализировали различные условия экстракции (тип растворителя для экстракции и тип очистки). Использование системы QuEChERS показало неудовлетворительные результаты, что, вероятно, связано с большими потерями образца в ходе процедуры пробоподготовки.

В качестве оптимального метода пробоподготовки выбрали экстракцию ацетонитрилом без использования твердофазной очистки экстракта. За основу взяли методику, предложенную Абатэ и др. [30], для определения афлатоксинов, красителей и пестицидов в специях.

На рис. 2 в качестве примера приведены хроматограммы малатиона в пробах корневищ с корнями валерианы в выбранных условиях



Таблица 4. Условия хроматографического разделения

| Параметр                                     | Значение                                                                                                                                             |
|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Объем вводимой пробы, мл                     | 0.010                                                                                                                                                |
| Элюент А                                     | 0.1%-ная муравьиная кислота в воде                                                                                                                   |
| Элюент Б                                     | Ацетонитрил                                                                                                                                          |
| Температура термостата колонки, °С           | 40                                                                                                                                                   |
| Скорость подачи элюента, мл/мин              | 0.350                                                                                                                                                |
| Программа элюирования, состав подвижной фазы | 0.00–2.00 мин 5% элюента Б;<br>2.01–10.00 мин 5–95% элюента Б;<br>10.01–11.00 мин 95% элюента Б;<br>11.01–15.00 мин 5% элюента Б (градиентный режим) |

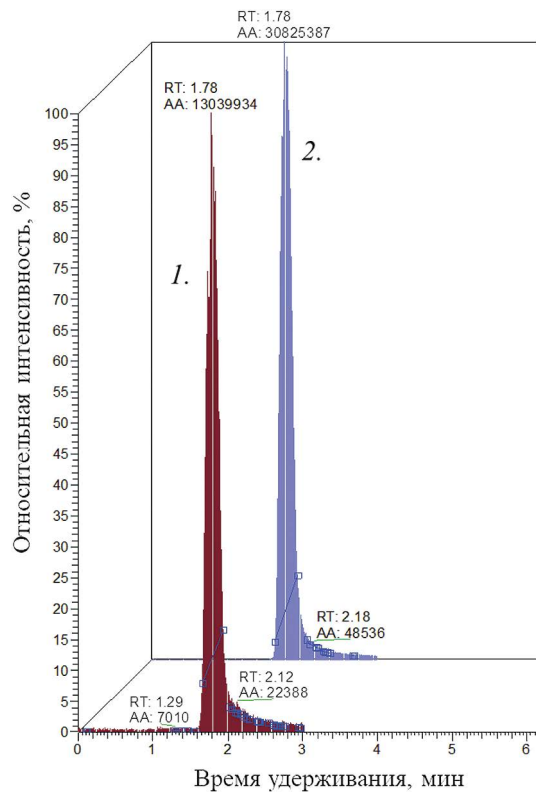


Рис. 2. Суперпозиция хроматограмм стандартного раствора, содержащего 100 нг/мл малатиона, по двум ионным реакциям. 1 – ионная реакция для определения содержания 214.0297 => 182.9875; 2 – ионная реакция для подтверждения присутствия 214.0297 => 196.0192.

разделения и подготовки проб. На хроматограммах представлена величина аналитического сигнала иона из масс-спектров фрагментации протонированных молекул аналитов, выбранного для количественного анализа.

**Валидацию методики** определения ФОП в ЛРС методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения проводили

на основе ОФС 1.1.0012 “Валидация аналитических методик” и ОФС 1.5.3.0011 “Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах” Государственной фармакопеи РФ XV издания [11] по следующим параметрам: специфичность, линейность, правильность и аналитическая область, предел

Таблица 5. Параметры хроматографического разделения фосфорорганических пестицидов

| Пестицид          | Время удерживания, мин | Коэффициент емкости | Число теоретических тарелок |
|-------------------|------------------------|---------------------|-----------------------------|
| Диазинон          | 9.0 ± 0.2              | 11.9                | 268 366                     |
| Диметоат          | 5.5 ± 0.2              | 6.9                 | 50 232                      |
| Ометоат           | 1.8 ± 0.2              | 1.6                 | 6355                        |
| Пиримифос-этил    | 9.7 ± 0.2              | 12.9                | 310 628                     |
| Пиримифос-метил   | 9.0 ± 0.2              | 11.9                | 336 017                     |
| Малатион          | 8.5 ± 0.2              | 11.1                | 156 127                     |
| Малаоксон         | 6.9 ± 0.2              | 8.8                 | 208 024                     |
| Хлорпирифос-метил | 9.3 ± 0.2              | 12.2                | 118 868                     |
| Фозалон           | 9.3 ± 0.2              | 12.2                | 205 796                     |

количественного определения, прецизионность.

Согласно требованиям к валидации аналитических методик SANCO, оценивали влияние матричного эффекта, хотя это не входит в обязательные критерии валидации.

**Специфичность.** Для подтверждения специфичности использовали пробы корневищ с корнями валерианы, не содержащие ФОП, и сравнивали с модельными пробами данного ЛРС, в которые в ходе пробоподготовки добавляли рабочий стандартный раствор ФОП в ацетонитриле. На полученных хроматограммах отсутствовали пики компонентов, мешающих определению ФОП. Время удерживания основного пика на хроматограммах испытуемых растворов совпало с временем удерживания основного пика на хроматограммах для каждого ФОП. Время удерживания для каждого пестицида, коэффициент емкости и эффективность разделения приведены в табл. 5.

**Линейность.** Для каждого определяемого пестицида готовили серию градуировочных растворов в диапазоне концентраций 0.01 до 10 000 нг/г. В качестве ВС использовали добавку 500 нг/мл малатион-d6 и 500 нг/мл дихлорфос-d6. Для хлорсодержащего пестицида хлорпирифоса площадь пика нормировали с пересчетом на дихлорфос-d6, в остальных случаях с пересчетом на малатион-d6. Для построения градуировочных зависимостей использовали отношения площадей пиков выбранной ионной реакции для определения ФОП к площадям пиков дейтерированных аналогов. По полученным значениям строили градуировочные графики. Установили, что графики зависимостей отношений площади пика каждого ФОП к площади

пика ВС от его содержания линейны и описываются уравнением  $y = ax$ . Полученные результаты приведены в табл. 6 и удовлетворяют критериям приемлемости по показателю “линейность”.

**Предел количественного определения.** В соответствии с полученными данными валидируемая методика обеспечивает следующие значения пределов количественного определения, нг/г: 0.01 для диазинона, 0.1 для диметоата, 0.1 для ометоата, 0.01 для пиримифос-этила, 0.01 для пиримифос-метила, 0.1 для малатиона, 0.01 для малаоксона, 10 для фозалона. Для этих значений отношение сигнал/шум для каждого компонента превышает 10 : 1. Данные значения предела количественного определения позволяют определять ФОП в ЛРС в количествах, соответствующих пределам допустимого содержания, обозначенных в ОФС 1.5.3.0011.15.

**Правильность** разработанного подхода проверяли методом введено–найдено. Для этого готовили серии проб корневищ с корнями валерианы с внесенными ФОП с концентрациями каждого аналита (нг/г) 0.04, 0.4, 4, 40, 400, 4000. Степень извлечения каждого пестицида лежала в диапазоне 70–110% (табл. 7).

**Прецизионность.** Повторяемость методики характеризует ее прецизионность при выполнении повторных испытаний в пределах короткого промежутка времени в условиях сходимости на одном и том же оборудовании. Определение проводили на шести испытуемых растворах корневищ с корнями валерианы лекарственной. Каждый раствор хроматографировали три раза.

Прецизионность оценивали методом введено–найдено на примере трех концентраций с тремя повторами для каждой и выражали в виде стандартного отклонения, относительного

**Таблица 6.** Метрологические характеристики определения фосфорорганических пестицидов в модельных пробах корневищ с корнями валерианы

| Пестицид          | Уравнение градуировочной зависимости | Диапазон линейности градуировочного графика, нг/г | $R^2$ |
|-------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------|-------|
| Диазинон          | $S_i = 9.04 \times 10^{-2} c_i$      | 0.01–10                                           | 0.996 |
| Диметоат          | $S_i = 0.22 c_i$                     | 0.1–100                                           | 0.997 |
| Ометоат           | $S_i = 0.186 c_i$                    | 0.1–100                                           | 0.998 |
| Пиримифос-этил    | $S_i = 0.322 c_i$                    | 0.01–10                                           | 0.995 |
| Пиримифос-метил   | $S_i = 6.51 \times 10^{-2} c_i$      | 0.01–10                                           | 0.993 |
| Малатион          | $S_i = 3.46 \times 10^{-3} c_i$      | 0.1–100                                           | 0.997 |
| Малаоксон         | $S_i = 3.32 \times 10^{-2} c_i$      | 0.01–10                                           | 0.994 |
| Хлорпирифос-метил | $S_i = 1.11 \times 10^{-4} c_i$      | 1–500                                             | 0.997 |
| Фозалон           | $S_i = 1.71 \times 10^{-4} c_i$      | 10–5000                                           | 0.996 |

Примечание:  $S_i = S_{\text{опр}}/S_{\text{вн.ст.}}$  – отношение площадей пика выбранной ионной реакции для количественной оценки определяемого аналита к площади пика соответствующего дейтерированного ВС;  $c_i$  – концентрация определяемого компонента в пробе, нг/г.

**Таблица 7.** Правильность и прецизионность определения фосфорорганических пестицидов в модельных пробах корневищ с корнями валерианы

| Пестицид          | Введено, нг/г | Найдено, нг/г | $s_r$ , % | $s$ , нг/г | Степень извлечения, % |
|-------------------|---------------|---------------|-----------|------------|-----------------------|
| Диазинон          | 0.04          | 0.037         | 4.02      | 0.0015     | 91.7                  |
|                   | 0.4           | 0.42          | 2.53      | 0.0107     | 106.0                 |
|                   | 4             | 4.09          | 2.41      | 0.0987     | 102.3                 |
| Диметоат          | 0.4           | 0.39          | 8.28      | 0.032      | 97.4                  |
|                   | 4             | 3.69          | 6.07      | 0.22       | 92.2                  |
|                   | 40            | 42.3          | 6.67      | 2.82       | 105.8                 |
| Ометоат           | 0.4           | 0.41          | 4.45      | 0.018      | 102.8                 |
|                   | 4             | 3.74          | 2.04      | 0.076      | 93.6                  |
|                   | 40            | 41.3          | 6.33      | 2.61       | 103.3                 |
| Пиримифос-этил    | 0.04          | 0.036         | 6.55      | 0.0024     | 90.4                  |
|                   | 0.4           | 0.42          | 2.17      | 0.0092     | 106.3                 |
|                   | 4             | 4.16          | 4.4       | 0.18       | 104.1                 |
| Пиримифос-метил   | 0.04          | 0.039         | 3.1       | 0.0012     | 96.8                  |
|                   | 0.4           | 0.42          | 2.98      | 0.012      | 103.9                 |
|                   | 4             | 3.70          | 2.91      | 0.11       | 92.5                  |
| Малатион          | 0.4           | 0.42          | 7.12      | 0.030      | 105.2                 |
|                   | 4             | 4.23          | 3.36      | 0.14       | 105.9                 |
|                   | 40            | 40.5          | 20.1      | 8.1        | 101.2                 |
| Малаоксон         | 0.04          | 0.038         | 6.11      | 0.0023     | 93.9                  |
|                   | 0.4           | 0.37          | 7.01      | 0.026      | 93.0                  |
|                   | 4             | 4.16          | 3.2       | 0.13       | 104.0                 |
| Хлорпирифос-метил | 4             | 3.78          | 1.1       | 0.043      | 94.3                  |
|                   | 40            | 36.2          | 4.5       | 1.64       | 90.5                  |
|                   | 400           | 387.7         | 10.6      | 41.1       | 96.9                  |
| Фозалон           | 40            | 34.5          | 8.07      | 2.78       | 86.2                  |
|                   | 400           | 378.8         | 2.29      | 8.67       | 94.7                  |
|                   | 4000          | 4133.2        | 9.2       | 380.4      | 103.3                 |

стандартного отклонения и относительной погрешности. Результаты представлены в табл. 7 и удовлетворяют валидационному критерию “прецизионность”.

**Матричный эффект.** Для каждого пестицида определяли матричный эффект (МЭ), сравнивая наклон градуировочных кривых в матрице (корневища с корнями валерианы) и ацетонитриле, используя формулу, приведенную в работах [21, 31]:

$$\text{МЭ, \%} = \left( \frac{\text{Наклон градуировочного графика в матрице}}{\text{Наклон градуировочного графика в ацетонитриле}} - 1 \right) \times 100.$$

Для большинства пестицидов МЭ оказался отрицательным со значениями ниже 20%, т.е.

происходит подавление интенсивности аналитического сигнала на хроматограммах. Это может быть связано с присутствием в корневищах с корнями валерианы эфирных масел и других вторичных метаболитов, конкурирующих с аналитами при хроматографическом разделении либо изменяющих свойства элюента, которые влияют на процесс дальнейшей ионизации. Так, МЭ для диазинона составил –13.7%, для диметоата –14.6%, для ометоата –7.6%, для пиримифос-метила –10.3%, для пиримифос-этила –17.0%, для малатиона –2%, для малаоксона –0.4%, для фозалона –10.7%. Хлорпирифос-метил показал при анализе увеличение хроматографического сигнала и соответственно положительный МЭ – +13.4%. Учет МЭ свидетельствует о приемлемости методики для анализа ЛРС.

\*\*\*

Разработана и валидирована методика одновременного определения девяти ФОП, допустимых к применению на территории РФ, в ЛРС методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения. Методика валидирована по следующим валидационным параметрам: специфичность, линейность, правильность и аналитическая область, предел определения, прецизионность, матричный эффект. Показано, что результаты валидации удовлетворительны по всем указанным критериям. Предложенный подход может быть успешно использован для идентификации и определения ФОП в ЛРС в широком диапазоне концентраций от 0.01 до 10 000 нг/г. Наряду с фармацевтическими компаниями, которые занимаются переработкой ЛРС и производством лекарственных растительных препаратов, предлагаемая методика может использоваться для анализа содержания ФОП в сырье производителями сельхозпродукции.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. McKelvey W., Jacobson J.B., Kass, D., Barr D.B., Davis M., Calafat A.M., Aldous K.M. Population-based biomonitoring of exposure to organophosphate and pyrethroid pesticides in New York city // *Environ. Health Perspect.* 2013. V. 121. № 11–12. P. 1349. <https://doi.org/10.1289/ehp.1206015>
2. Atwood D., Paisley-Jones C. Pesticides Industry Sales and Usage 2008-2012 Market Estimates. Washington, DC: U. S. Environmental Protection Agency. [https://www.epa.gov/sites/default/files/2017-01/documents/pesticides-industry-sales-usage-2016\\_0.pdf](https://www.epa.gov/sites/default/files/2017-01/documents/pesticides-industry-sales-usage-2016_0.pdf) (дата обращения 09.12.2023).
3. Schummer C., Mothiron E., Appenzeller B.M. R., Rizet A., Wennig R., Millet M. Temporal variations of concentrations of currently used pesticides in the atmosphere of Strasbourg, France // *Environ. Pollut.* 2010. V. 158. № 2. P. 576. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.08.019>
4. Rajput S., Kumari A., Arora S., Kaur R. Multi-residue pesticides analysis in water samples using reverse phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) // *Methods X.* 2018. V. 5. P. 744. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2018.07.005>
5. Mwevura H., Kylin H., Vogt T., Bouwman H. Dynamics of organochlorine and organophosphate pesticide residues in soil, water, and sediment from the Rufiji River Delta, Tanzania // *Reg. Stud. Mar. Sci.* 2021. V. 41. Article 101607. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101607>
6. Noore S., Ramesh G., Vendan S.E., Nagaraju V.D. Persistence and diffusion behaviour of chlorpyrifos in five different species of vegetables: A comparative analysis // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2021. V. 217. Article 112208. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112208>
7. Romero-González R., Aguilera-Luiz M.M., Plaza-Bolaños P., Frenich A.G., Vidal J.M. Food contaminant analysis at high resolution mass spectrometry: Application for the determination of veterinary drugs in milk // *J Chromatogr A.* 2011. V. 1218. № 52. P. 9353. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.10.074>
8. Naksen W., Prapamontol T., Mangklabruks A., Chantara S., Thavornnyutikarn P., Robson M.G., et al. A single method for detecting 11 organophosphate pesticides in human plasma and breastmilk using GC-FPD // *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2016. V. 1025. P. 92. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.04.045>
9. Luo L., Dong L., Huang Q., Ma S., Fantke P., Li J., et al. Detection and risk assessments of multi-pesticides in 1771 cultivated herbal medicines by LC/MS-MS and GC/MS-MS // *Chemosphere.* 2021. V. 262. Article 127477. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127477>
10. Tripathy V., Basak B.B., Varghese T.S., Saha A. Residues and contaminants in medicinal herbs — A review // *Phytochem Lett.* 2015. V. 14. P. 67. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2015.09.003>
11. Государственная фармакопея Российской Федерации. 15-е изд. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2023. <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (дата обращения 09.12.2023).
12. European Pharmacopoeia 11th Ed. EDQM (European Directorate for the Quality of Medicines and Healthcare). <https://pheur.edqm.eu/> (дата обращения 09.12.2023).
13. United States Pharmacopeia 45. National Formulary 40. Second Supplement. United States Pharmacopeial Convention. <http://www.uspnf.com/> (дата обращения 09.12.2023).
14. European Commission SANCO. Quality control procedures for pesticide residues analysis. Document

- SANCO/10232/2006. 24 March. [https://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance\\_Sanco\\_2006\\_10232.pdf/](https://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2006_10232.pdf/) (дата обращения 09.12.2023).
15. European Commission. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Document SANTE/11813/2017. 21-22 November. [https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE\\_11813\\_2017-fin.pdf/](https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11813_2017-fin.pdf/) (дата обращения 09.12.2023).
  16. EPA, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances (OPPTS) Residue Chemistry Test Guideline OPPTS 860.1340. Residue Analytical Methods, 1996. <https://www.regulations.gov/document/EPA-HQ-OPPT-2009-0155-0007/> (дата обращения 09.12.2023).
  17. WHO Guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. Geneva: World Health Organization, 2007. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43510/> (дата обращения 09.12.2023).
  18. The Unani Pharmacopoeia of India. 1st Ed. Part 2. V. 3. Pharmacopoeia Commission for Indian Medicine & Homoeopathy Ministry of AYUS H. Government of India. [https://pcimh.gov.in/show\\_content.php?lang=1&level=1&ls\\_id=58&lid=56](https://pcimh.gov.in/show_content.php?lang=1&level=1&ls_id=58&lid=56) (дата обращения 09.12.2023).
  19. Фармакопея Евразийского экономического союза. Москва: Евразийская экономическая комиссия, 2020. <https://docs.eaeunion.org/> (дата обращения 09.12.2023).
  20. United States Pharmacopeia 38. National Formulary 33. First Supplement. United States Pharmacopeial Convention. <http://www.uspnf.com/> (дата обращения 09.12.2023).
  21. Reichert B., Pizzutti I.R., Costabeber I.H., Uclés A., Herrera S., Fernández-Alba A.R. Validation and application of micro flow liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of pesticide residues in fruit jams // *Talanta*. 2015. V. 134. P. 415. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.11.047>
  22. Liu X.Q., Li Y.F., Meng W.T., Li D.X., Sun H., Tong L., Sun G.X. A multi-residue method for simultaneous determination of 74 pesticides in Chinese material medica using modified QuEChERS sample preparation procedure and gas chromatography tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2016. V. 1015-1016. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.01.029>
  23. Taha S.M., Gadalla S.A. Development of an efficient method for multi residue analysis of 160 pesticides in herbal plant by ethyl acetate hexane mixture with direct injection to GC-MS/MS // *Talanta*. 2017. V. 174. P. 767. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.06.080>
  24. Hu Y., Wan L., Zhang J., Yang F., Cao J. Rapid determination of pesticide residues in Chinese materia medica using QuEChERS sample preparation followed by gas chromatography–mass spectrometry // *Acta Pharm. Sin. B*. 2012. V. 2. № 3. P. 286. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2012.03.005>
  25. Lozano A., Rajski L., Belmonte-Valles N., Uclés A., Uclés S., Mezcuca M., Fernández-Alba A.R. Pesticide analysis in teas and chamomile by liquid chromatography and gas chromatography tandem mass spectrometry using a modified QuEChERS method: Validation and pilot survey in real samples // *J. Chromatogr. A*. 2012. V. 1268. P. 109. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.10.013>
  26. Chen L., Song F., Liu Z., Zheng Z., Xing J., Liu S. Multi-residue method for fast determination of pesticide residues in plants used in traditional chinese medicine by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. A*. 2012. V. 1225. P. 132. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.12.071>
  27. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации от 3 октября 2023 года. <https://mcx.gov.ru/ministry/departments/departament-rastenievodstva-mekhanizatsii-khimizatsii-i-zashchity-rasteniy/industry-information/info-gosudarstvennaya-usluga-po-gosudarstvennoy-registratsii-pestitsidov-i-agrokhimikatov/> (дата обращения 09.12.2023).
  28. Крылов В.И., Яшикур В.А., Браун А.В., Крылов И.И., Фатеенкова О.В., Савватеев А.М. Разработка методов синтеза малатиона-Д6, хлорофоса-Д6 и дихлофоса-Д6 для использования в качестве внутренних стандартов при анализе лекарственного растительного сырья и фито-препаратов // *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023. V. 13. № 3. P. 411. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-517>
  29. Anastassiades M., Lehota S.J., Štajnbaher D., Schenck F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce // *J. AOAC Int.* 2003. V. 86. № 2. P. 412. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>
  30. Ferrer Amate C., Unterluggauer H., Fischer R.J., Fernández-Alba A.R., Masselter S. Development and validation of a LC-MS/MS method for the simultaneous determination of aflatoxins, dyes and pesticides in spices // *Anal. Bioanal. Chem.* 2010. V. 397. № 1. P. 93. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3526-x>
  31. Chawla S., Patel H.K., Gor H.N., Vaghela K.M., Solanki P.P., Shah P.G. Evaluation of matrix effects in multiresidue analysis of pesticide residues in vegetables and spices by LC-MS/MS // *J. AOAC Int.* 2017. V. 100. № 3. P. 616. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0048>

## DETERMINATION OF NINE ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES BY HIGH-RESOLUTION HPLC-MS/MS IN MEDICINAL PLANT MATERIALS

O. V. Fateenkova<sup>a,\*</sup>, A. M. Savvateev<sup>a,\*\*</sup>, A. V. Braun<sup>b</sup>, V. L. Beloborodov<sup>a</sup>, I. V. Gravel<sup>a</sup>

<sup>a</sup> I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation, 119991 Moscow, Russia

<sup>b</sup> Laboratory for the Chemical and Analytical Control of the Military Research Centre, 105005 Moscow, Russia

\*E-mail: Fateenkova-Olga@mail.ru

\*\*E-mail: Savvateev\_A\_M@staff.sechenov.ru

**Abstract.** A method for the simultaneous determination of organophosphorus pesticides (OPPs)—diazinon, dimethoate, omethoate, pirimiphos-methyl, pirimiphos-ethyl, malathion, malaoxon, chlorpyrifos-methyl, and phosalone—in medicinal plant materials using high-resolution liquid chromatography-mass spectrometry has been developed. The method involves a rapid sample preparation procedure, where ground plant material is extracted with acetonitrile. Analytical conditions were optimized using reverse-phase chromatography. The determination is carried out using the internal standard method with deuterated standards of malathion-d6 and dichlorvos-d6, based on two of the most intense, specific ion reactions for each individual OPP. The method was tested on plant materials, specifically the rhizomes with roots of valerian (*Rhizomata cum radicibus Valerianae officinalis*), and validated for specificity, linearity, accuracy, analytical range, limit of quantification, precision, and matrix effect. This method can be used to determine the mentioned OPPs in a wide concentration range, from 0.01 to 10,000 ng/g of raw material, in both medicinal and agricultural plant cultivation.

**Keywords:** organophosphorus pesticides, medicinal plant materials, high-resolution mass spectrometry, high-performance liquid chromatography, validation.