

RP-HPLC МЕТОДИ ЗА КВАНТИТАТИВНО ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА АКТИВНАТА КОМПОНЕНТА ПИРИМИКАРБ ВО ПЕСТИЦИДНАТА ФОРМУЛАЦИЈА PIRIMOR 25 WG

Биљана Петановска - Илиевска *

Универзитет Св Кирил и Методиј, Факултет за земјоделски науки и храна,
1000 Скопје, Р. Македонија;
email bpetan88@yahoo.com

Апстракт

Во трудот се презентирани методи за квантитативно определување на активната компонента пиримикарб во пестицидната формулација Pirimor 25 WG. За разработка на методите, извршени се прелиминарни испитувања во коишто е следено влијанието температурата, pH на растворот од водниот дел на мобилната фаза и уделот на органскиот модификатор врз факторот на капацитет на колоната за пиримикарб. Овие определувања се изведени на брза колона од типот HS 3 x 3 C-18 (3,3 cm x 0,4 cm) и мобилна фаза составена од ацетонитрил/вода

За квантитативно определување на пиримикарб во пестицидната формулација Pirimor 25 WG разработени се IV реверзно-фазни HPLC методи на колоните од типот: HS 3 x 3 C-18 (3,3 cm x 0,46 cm), Hypersil ODS (25 cm x 0,46 cm), HS 3 x 3 C-8 (3,3 cm x 0,46 cm, 3 μ m) и LiChrosorb RP-8 (25 cm x 0,4 cm; 5 μ m).

Испитувањата покажаа дека колоните од типот HS коишто се употребени за разработка на методите I и III за квантитативно определување на пиримикарб со помош на реверзно-фазната течна хроматографија се: ефикасни, прецизни и економични.

Клучни зборови: HPLC методи, пиримикарб,

HPLC METHODS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF ACTIVE INGREDIENT PIRIMICARB IN PESTICIDE FORMULATION PIRIMOR 25 WG

Biljana Petanovska-Ilievska

Faculty of Agricultural Sciences and food, "Ss. Cyril and Methodius" University, Skopje, Republic of Macedonia
email bpetan88@yahoo.com

Abstract

HPLC methods for quantitative determination of active ingredient pirimicarb in the pesticide formulations Pirimor 25 WG, are presented in this paper.

The preliminary investigations were performed to assess the influence of temperature, pH values of aqueous mobile phase, and volume fraction of the organic modifier on a capacity factor for pirimicarb, before the methods were developed. Those investigations were performed on high-speed column HS 3 x 3 C18 (3,3 x 0,4 cm), with mobile phase composition of acetonitrile/water.

For quantitative determination of pirimicarb in pesticide formulation Pirimor 25 WG, were developed IV reversed-phase HPLC methods using different column types: HS 3 x 3 C-18 (3,3 cm x 0,46 cm), Hypersil ODS (25 cm x 0,46 cm), HS 3 x 3 C-8 (3,3 cm x 0,46 cm, 3 μ m) and Lichrosorb RP-8 (25 cm x 0,4 cm; 5 μ m).

The investigation showed that HS columns type, that were used for the developed methods I and III for quantitative determination of pirimicarb with reverse-phase liquid chromatography have some advantages like: efficiency, precise and economic.

Keywords: HPLC methods, pirimicarb

Вовед

Пиримикарб е активна компонента во пестицидната формулација Pirimor 25 WG, чиешто име според IUPAC номенклатурата е 2-диметиламино-5,6-диметилпиримидин-4-ил диметилкарбамат (2-dimethylamino-5,6-dimethylpyrimidin-4-yl dimethylcarbamate). Спаѓа во групата на селективните афициди, што не се фитотоксични и не делуваат врз предаторите и паразитите на штетните инсекти (Mazoni и Cravedi, 2002; Oasley и сор., 2005).

Биолошката ефикасност на пиримикарб е тема на бројни испитувања од различни автори. Исто така и остатоците на оваа активна компонента се често пати определувани во различни матрици од растително или пак, анимално потекло (Kift и сор., 2004; Reynolds и сор., 2005; и White и сор., 2006). Имено, овие определувања главно се симултани, и се изведени со помош на GC анализата со MS (Bolygó i Etreya, 1991; Jager и сор., 1998), NP (Alzaga и сор., 1995, 1996, Rosi и сор., 2001; Menkissoglu и Fotopoulou, 2003 2004), AFI (Szeto i Sundaram, 1980) и EC детектори (Koinecke и сор., 1997 и Kreuzig и сор., 2000).

Метаболитите на пиримикарб се определени со помош на течната хроматографија на колоните од типот RP-18, RP-8 и NH₂ (Osselton и Snelling, 1986; Cabras и сор., 1989, 1988 и Zhou и сор., 1990).

За определување на пиримикарб во пестицидни формулации како референтен метод, се користи гасно течниот (CIPAC-method, 1984), разработен од Vagness и Sharples (1974).

Високо ефикасната течна хроматографија е техника за брзо и точно определување на активни компоненти во пестицидни формулации. Од овие причини, цел на овој труд е да ги прикаже можностите за определување на пиримикарб во пестицидни формулации со помош на RP-HPLC. При тоа во трудот ќе се искористат податоците од разработките на HPLC методи за квантитативно определување на пиримикарб во Pirimor 25 WG со помош на неколку реверзно фазни колони, објавени во меѓународниот часопис за Заштита на

растенија од Петановска-Илиевска и сор., 2003 и 2009.

Експериментален дел

Реагенси: За подготовка на мобилните фази користени се: вода, метанол, ацетонитрил, со HPLC чистота (Sigma Aldrich- Deisenhofen, Germany). За определување на нултото време на колоната користен е KNO₃ (Алкалоид - Р. Македонија). Аналитичкиот стандард од пиримикарб е подарок од Zeneca (UK), а е добиен преку генералниот застапник за Македонија - Радомак.

HPLC анализи: За разработка на хроматографските методи користени се брзи колони (HS-high spread) од типот: HS 3 x 3 C-18 (3,3 cm x 0,46 cm, 3 µm) и HS 3 x 3 C-8 (3,3 cm x 0,46 cm; 3 µm), произведена од Perkin Elmer како и колоните од типот LiChrosorb RP-8 (25 cm x 0,4 cm; 5 µm) произведена од Merck и Hypersil ODS (25 cm x 0,46 cm, 5 µm, Sigma-Aldrich).

Експериментите се изведени на HPLC произведен од Perkin Elmer со бинарна пумпа (модел LC 250) и UV Diode Array Detector (модел LC 235). За одржување на константна температура во колоната користена е термостатирана печка Spark Holland "Mistral" (тип 880). Основните стандардни раствори и пробите од пестицидните формулации како и приготвените мобилни фази се дегазирани со помош на ултразвучно купатило од типот "Elma". Пробите и работните стандардни раствори се филтрирани преку 0,45 µm Spartan-T шприц филтри (Sigma-Aldrich).

Стандардни раствори и проби: Основниот стандарден раствор од пиримикарб е приготвен со растворање на аналитичкиот стандард (0,0100 g) со метанол во одмерна тиквичка со волумен од 25 cm³. Вака приготвениот стандарден раствор е ултрасонофициран во ултразвучно купатило во времетраење од 10 min и е чуван на 4 °C .

Стандардната калибрациона крива за пиримикарб е добиена од податоците од мерењата на серија од работни раствори со различна маса. Серијата е подготвена од основниот стандарден раствор на следниов начин: во одмерни тиквички со волумен од 10 cm³ се префрлени порции со волумен од

0,1 cm³; 0,2 cm³; 0,4 cm³; 0,8 cm³; 1,2 cm³; 1,6 cm³ и 2 cm³, по што тиквичките се дополнети до марката со смеса од ацетонитрил/вода со волуменски однос 50/50. Секој работен раствор е инјектиран три пати, со одделни порции со волумен од по 5 mm³ (5μL). Добиените податоци од испитувањата се обработени со помош на методот на најмали квадрати, со готова статистичка програма-OMEGA (1989).

За определување на уделот на пиримикарб во пестицидната формулација Pirimor 25 WG, направени се две мерења на проби со маса од 0,0250 g и 0,0125 g во одмерни тиквички со волумен од 25 cm³. Пробите се растворени во смеса од ацетонитрил/вода со волуменски однос 50/50 и ултрасонифицирани во ултразвучно купатило во времетраење од 20 min. Од овие раствори, во одмерни тиквички со волумен од 10 cm³ префрлени се порции со волумен од 1 cm³ и дополнети до марката со конститuentите на мобилната фаза со еквивалентни волумени. Пред инјектирањето, примероците (5 mm³) се филтрирани низ 0,45 μm Spartan-T шприц филтри.

Резултати и дискусија

Пред да се пристапи кон разработката на методите, извршени се прелиминарни испитувања во коишто е следено влијанието на температурата и уделот на органскиот модификатор врз ретенцискиот фактор на пиримикарб (Петановска-Илиевска и сор., 2003). Овие определувања се изведени на брза колона од типот HS 3 x 3 C-18 (3,3 cm x 0,46 cm) и мобилна фаза составена од ацетонитрил/вода. Влијанието на температурата врз ретенцискиот фактор за секој променет градиент од органскиот дел во мобилната фаза е следено на 25 °C, 30 °C, 35 °C и 40 °C. Со графичкото прикажување на експерименталните податоци, добиени се van't Hoff-овите дијаграми во кои на апсцисата се нанесени реципрочните вредности на температурата, а на ординатата $\ln k$ (Сл. 1).

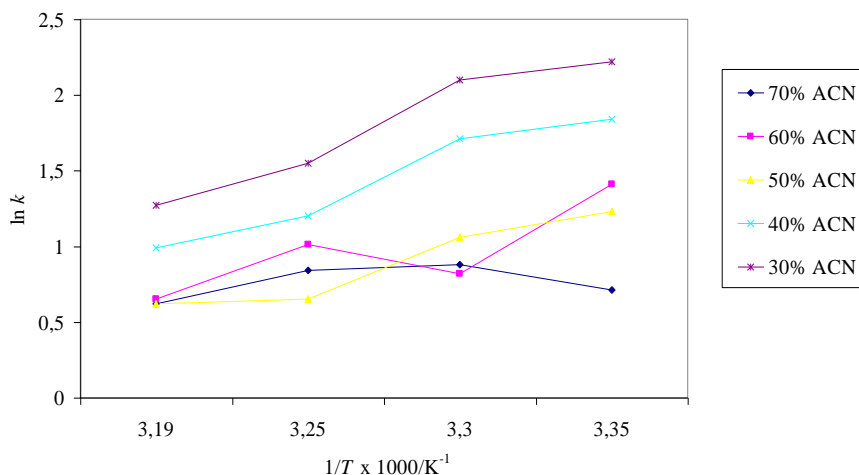
Од дијаграмите се забележува дека типично “нерегуларно” однесување за пиримикарб се јавува во случај кога употребената мобилна фаза е составена од ацетонитрил и вода со волуменски однос од 60/40 и 70/30.

За разработка на методот I употребена е кратка колона од типот HS 3 x 3 C-18, мобилна фаза составена од ацетонитрил/вода со волуменски однос од 25/75, температура во термостатираниот простор на колоната 25 °C, и брзина на проток на мобилна фаза од 1,0 cm³/min (Сл. 2). Под овие хроматографски услови, просечното ретенциско време на пиримикарб во хроматографската колона изнесува 0,83 min.

Испитувањата извршени на колоната од типот Hypersil ODS (метод II) покажаа дека, под наведените услови за хроматографирање што се користени во методот I, доаѓа практично до преципитација на пиримикарб во стационарната фаза. Со зголемување на уделот на органскиот модификатор до 65 % се забележува појава на хроматографски пик од пиримикарб со ретенциско време од 6,07 min (Сл. 3a). Во хроматограмот добиен под овие услови, повторно се забележува шум на базната линија, а добиениот пик е со мала десна асиметрија.

За оптимизирање на условите за сепарација потребно е да се провери влијанието на температурата, бидејќи е можно анализата да се изведе подобро (побрзо или поточно) на температура повисока или пониска од вообичаената.

Со употреба на мобилна фаза составена од ацетонитрил/вода со волуменски однос од 75/25, проток на мобилна фаза 1,0 cm³/min и температура од 40 °C, ретенциското време на пиримикарб се намалува на 4,31 min (метод II). Притоа доаѓа до намалување на асиметријата на хроматографскиот пик од анализираната компонента и смирување на базната линија (Сл. 3b). Индексот на чистота на пикот од пиримикарб определен под наведените услови изнесува 1,1.



Сл. 1. Зависност на $\ln k$ за пиримикарб од реципрочната вредност на температурата и уделот на ацетонитрил во мобилната фаза составена од ACN/H₂O

Fig. 1. Dependence of $\ln k$ for pirimicarb from reciprocal value of temperature and percent of acetonitrile in the mobile phase composition of ACN/H₂O

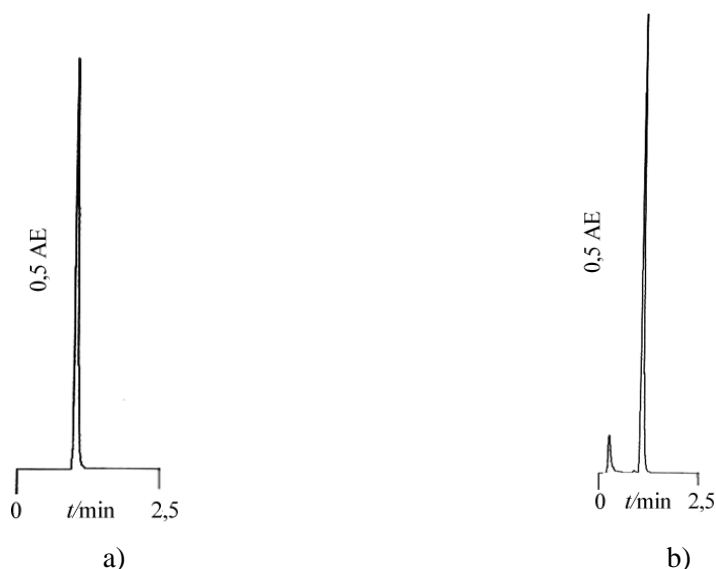
Линеарноста на двете разработени методи е тестирана во граници од 20 ng до 370 ng инјектирана маса од аналитичкиот стандард или негова масена концентрација од 4 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ до 74 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. Во испитуваното концентрациско подрачје добиена е повисока вредност за коефициентот на детерминација ($r^2 = 0,99930$) за методот I во однос на методот II во којшто се покажа полоша корелација меѓу масата на аналитот и површината на хроматографските пикови ($r^2 = 0,99889$) (Табела 1). Определените вредности за овој статистички критериум се блиски со добиените вредности за коефициентот на корелација (r), од Sabat al. (1989) (од 0,9991 до 0,9997) кои работеле на сепарацијата на пиримикарб од неговите метаболити. За определување на концентрацијата на пиримикарб авторите ја користеле колоната од типот RP-8 и мобилна фаза составена од пуфер/ацетонитрил. Линеарната зависност на случајно променливите величини (концентрација на пиримикарб и површина на пик) ја тестирале во интервал од 0 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ до 1,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.

Добиените вредности за коефициентите на детерминација од испитувањата (0,99930 за методот I, и 0,99889 за методот II) се повисоки од добиените вредности за коефициентите на корелација (0,9981) од Klys и Bialka [39], кои

во испитувањата ја користеле колоната од типот Separon SGX C-18 и мобилна фаза составена од ацетонитрил (156 cm^3)/фосфатен пуфер со pH вредност од 6,8 (344 cm^3). Добиените вредности за коефициентите на детерминација од статистичката обработка на експериментално добиените податоци за површината на добиениот сигнал и масата на аналитот, имаат скоро идентични бројни вредности кај сите тестирани полиноми за методот I (Таб. 1) Оттука, оваа зависност може да се смета за линеарна. Кај методот II, највисока вредност за коефициентот на детерминација е добиена за кубниот полином (0,99901).

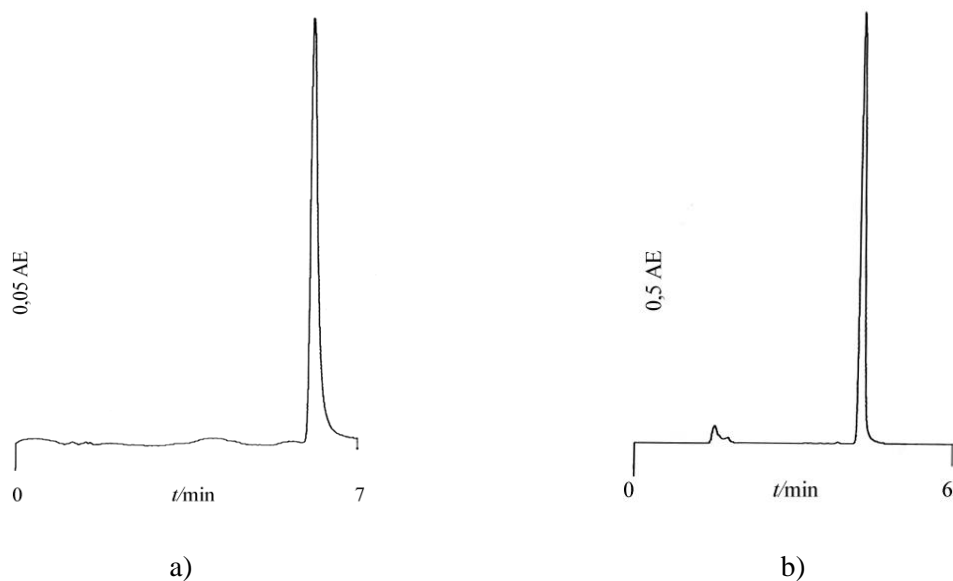
Долната граница на детекција (LOD) и за двете методи е определена при сензитивност на детекторот од 0,05 апсорпциски единици (AE). Вредноста за овој параметар е определена со користење на условите што се дефинирани со методот I, а изнесува 2,064 ng (0,4128 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$), додека за методот II, оваа вредност изнесува 1,38

ng ($0,276 \mu\text{g}/\text{cm}^3$).



Сл. 2 Хроматограм на пиримикарб: (а) аналитички стандард (276 ng), (б) пестицидна формулација, добиен на колона HS 3 x 3 C-18, мобилна фаза ацетонитрил/вода со волуменски однос 25/75, проток $1 \text{ cm}^3/\text{min}$, температура $25 \text{ }^\circ\text{C}$, UV детекција на бранова должина од 245 nm (метод I)

Fig. 2. Chromatogram of pirimicarb: (a) analytical standard (276 ng), (b) pesticide formulation, obtained on the column HS 3 x 3 C-18, mobile phase acetonitrile/water with volume ratio 25/75, flow-rate $1 \text{ cm}^3/\text{min}$, temperature $25 \text{ }^\circ\text{C}$ and UV detection on 245 nm (method I)



Сл. 3. Хроматограм на пиримикарб добиен од: (а) аналитичкиот стандард, колона Hypersil ODS (25 cm x 0,46 cm), мобилна фаза ацетонитрил/вода со волуменски однос 65/35, проток $1 \text{ cm}^3/\text{min}$, температура $25 \text{ }^\circ\text{C}$ и UV детекција на бранова должина од 245 nm. (б) пестицидната формулација, колона Hypersil ODS (25 cm x 0,46 cm), мобилна фаза ацетонитрил/вода со волуменски однос 75/25, проток $1 \text{ cm}^3/\text{min}$, температура $40 \text{ }^\circ\text{C}$ и UV детекција на бранова должина од 245 nm (метод II)

Fig 3. Chromatogram of pirimicarb obtained of: (a) analytical standard, column Hypersil ODS (25 cm x 0,46 cm), mobile phase acetonitrile/ water with volume ratio 65/35, flow $1 \text{ cm}^3/\text{min}$, temperature $25 \text{ }^\circ\text{C}$ and UV detection on 245 nm, (b) pesticide formulation, column Hypersil ODS (25 cm x 0,46 cm), mobile phase acetonitrile/water with volume ratio 75/25, flow-rate $1 \text{ cm}^3/\text{min}$, temperature $40 \text{ }^\circ\text{C}$ and UV detection on 245 nm (method II)

Табела 1. Податоци за статистичка проценка на калибрациските криви од пиримикарб за тестираните методи
Table 1. Statistical data for evaluation of pirimicarb calibration curves for tested methods

Статистички параметри Statistical parameters	R^2 линеарна зависност R^2 linear fit		R^2 квадратна зависност R^2 quadrate fit		R^2 кубна зависност R^2 cubic fit	
	Површина Area	Висина Height	Површина Area	Висина Height	Површина Area	Висина Height
Тестирани параметри Tested parameters						
Метод I Method I	0,99930	0,98830	0,99931	0,99331	0,99932	0,99350
Метод II Method II	0,99889	0,99105	0,99894	0,99320	0,99901	0,99320

Резултатите за проценка на еднодневната прецизност на двете методи се добиени со осум суцесивни инјектирања на работниот стандарден раствор од пиримикарб со маса 276 ng (55,2 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$). Добиените вредностите на релативната стандардна девијација за ретенциското време и површината на пикот од пиримикарб и за двете методи се пониски од 2 %.

Повеќедневните анализи што се направени под услови наведени за методот II, покажа дека ODS колоната нема добра интермедијарна прецизност на ретенциското време. Имено, слично однесување е забележано во испитувањата направени од C a b r a s кои за определување на пиримикарб и неговите метаболити употребиле мобилна фаза составена од ацетонитрил/вода и колони од типот RP-8 и RP-18.

За проценка на интермедијарната прецизност на методот I направена е статистичко обработка на добиените резултати од испитувањата за ретенциското време и површината на пикот од пиримикарб со помош на ANOVA тестот.

Пресметаната вредност за F (Фишеров статистички критериум) од експериментално добиените податоци за методот I, со 0,05 коефициент на ризик и 2 и 14, како и за 7 и 14 степени на слобода се пониски од прикажаните вредности во статистичките табели за истиот број на степени на слобода и коефициент на ризик. Врз основа на овие податоци, може да се констатира дека од статистичка гледна точка не постои значајна разлика помеѓу добиените резултати за ретенциското време и површината. За разработка на Методот IV (Сл. 4г) користена е долга колона од типот LiChrosorb

на пиковите што се добиени во еднодневните и повеќедневните анализи.

Точноста на методот I е проценета со додавање на 276 ng од аналитичкиот стандард во измерените проби од Pirimor 25 WG. Аналитичкиот принос за испитуваниот аналит, добиен со користење на условите дефинирани за методот I е 99,13 % со RSD = 0,74 % (n = 6) за помалата маса од измерената проба и 99,65 % со RSD = 1,26 % (n = 6) за поголемата маса од измерената проба.

Средната вредност за содржината на пиримикарб во Pirimor 25 WG (метод I), чијашто измерена маса е помала изнесува 25,50 % со RSD = 0,69 % (n = 6), додека во поголемата маса од измерената проба определен е удел од 24,87 % со RSD = 0,21 % (n = 6).

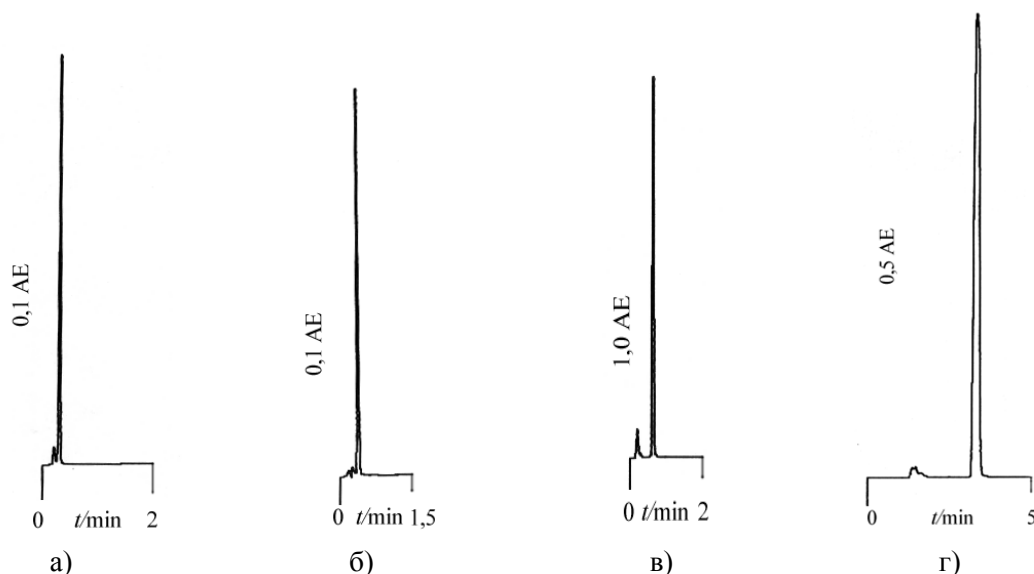
Разработката на методите III и IV (Петановска-Илиевска и сор., 2009) е изведена на бранова должина од 245 nm и температура од 25 °C. За да се определат оптималните услови за работа користена е мобилна фаза од ацетонитрил/вода со различни волуменски односи и проток од 1 mL/min (Сл. 4а, 4б и 4в). Ретенциското време за различните удели на конститuentите од мобилната фаза е $t_R = 0,46$ min (75/25 V/V) и $t_R = 0,54$ min (65/35 V/V). Поголема вредност за ретенциското време $t_R = 0,65$ min (n = 24, SD = 0,011 min и RSD = 1,69 %) и факторот на капацитет на колона ($k' = 1,95$) е добиен со употреба на мобилната фаза со однос 60/40 (V/V), од овие причини разработката на Методот III е направена под овие хроматографски услови.

RP-8, мобилна фаза составена од ацетонитрил/вода со волуменски однос 75/25

и температура на колоната од 30 °C. При овие услови, постигнато е ретенциско време на анализот од приближно 3,34 min ($n = 8$, $SD = 0,016$ min, $RSD = 0,48$ %).

Заради поголемата осетливост на детекторот во однос на пикот од интерес, во услови дефинирани со Методот III, типот на зависност помеѓу мерените хроматографски

параметри (површина или висина) и масата на пиримикарб е тестиран во интервал од 10 ng до 380 ng ($2 \mu\text{g}/\text{cm}^3 - 76 \mu\text{g}/\text{cm}^3$). Додека за Методот IV, типот на зависноста помеѓу двете зависно променливи величини е тестиран во интервал со маса од 20 ng до 380 ng ($4 \mu\text{g}/\text{cm}^3 - 76 \mu\text{g}/\text{cm}^3$).



Слика 4. Хроматограм на пиримикарб од пестицидната формулација добиен на колона HS 3 x 3 C-8, температура 25 °C, мобилна фаза ацетонитрил/вода со волуменски однос: 75/25 (а), 65/35 (б), 60/40 (в), проток 1 mL/min, и UV-детекција на бранова должина од 245 nm Метод III; колона LiChrosorb RP-8, температура 30 °C, мобилна фаза ацетонитрил/вода со волуменски однос 75/25 (г), проток 1 mL/min, и UV-детекција на бранова должина од 245 nm, Метод IV

Figure 4. Chromatogram of pirimicarb from pesticide formulation separated on HS 3 x 3 C-8 column, temperature 25 °C mobile phase acetonitrile/water in volume ratio 75/25 (a), 65/35 (b) 60/40 (c), flow rate 1 mL/min and UV-detection 245 nm Method III; LiChrosorb RP-8, temperature 30 °C, mobile phase acetonitrile/water in volume ratio 75/25, flow rate 1 mL/min and UV-detection 245 nm, Method IV

Добиените вредности за површина и висина на пиковите статистички се обработени со методот на најмали квадрати, со помош на линеарен, квадратен и кубен модел. Добиените вредности за коефициентот на детерминација се прикажани во Табела 2. од каде што може да се забележи дека коефициентот на детерминација има особено висока вредност (0,99987) за трите полиноми во кои е тестирана корелацијата помеѓу масата на анализот и површината на хроматографските пикови, што се добиени со употреба на Методот III. Кај Методот IV највисока вредност за коефициентот на детерминација (0,99889) е добиена при

тестирање на експериментално добиените резултати за површина на хроматографските пикови со помош на кубниот полином.

Долната граница на детекција за пиримикарб, за Методот III е определена при осетливост на детекторот од 0,05 AE, а изнесува 172 pg, додека за Методот IV изнесува 2,15 ng.

Од добиените резултати се забележува дека површината на пиковите што се добиени на кратката колона од типот HS C-8 ($m = 284$ ng; $n = 24$; $\bar{x} = 7815537$; $SD = 44013,59$; $RSD = 0,56$ %) е поголема во однос на оние добиени на колоната од типот LiChrosorb RP-8 ($m = 284$ ng; $n = 8$; $\bar{x} = 7343488$; $SD = 178741,50$; $RSD = 2,43$ %). Висината на пиковите што се

добиеени со Методот IV, за истата инјектирана маса е петпати пониска во однос на висината што е измерена кај добиените пикови на кратката колона. Притоа, може да се претпостави дека со користење на колоната од типот LiChrosorb RP-8 можна е

хемиска реакција меѓу стационарната фаза и испитуваната компонента, заради што веројатно доаѓа и до нејзино заостанување во стационарната фаза и намалување на ефикасноста на колоната.

Табела 2. Податоци за статистичка проценка на калибрациските криви од пиримикарб за тестираните методи
Table 2. Statistical data for evaluation of pirimicarb calibration curves for tested methods

Статистички параметри Statistical parameters	R^2 линеарна зависност R^2 linear fit		R^2 квадратна зависност R^2 quadrate fit		R^2 кубна зависност R^2 cubic fit	
	Површина Area	Висина Height	Површина Area	Висина Height	Површина Area	Висина Height
Тестирани параметри Tested parameters						
Метод III Method III	0,99987	0,98957	0,99987	0,99638	0,99987	0,99640
Метод IV Method IV	0,99875	0,99666	0,99878	0,99674	0,99889	0,99820

Добиените резултати за ретенциското време и површината на пиковите од аналитичкиот стандард на пиримикарб (284 ng) во ед-нодневните и повеќедневните мерења направени со помош на Методот III, се обработени со ANOVA тестот. Пресметаните вредности за фишеровиот статистички критериум (F) за двата тестирани параметри се пониски од табеларните при ист број на степени на слобода (2, 14 и 7, 14) и коефициент на ризик $\alpha = 0,05$. Оттука, може да се констатира дека не постои сигнификантна разлика меѓу резултатите добиени со употреба на Методот III во ед-нодневната анализа и оние добиени со повторување на анализата во повеќе дена.

Средната вредност за аналитичкиот принос, што е добиена со употреба на Методот III изнесува 97,07 % ($n = 6$) со релативна стандардна девијација од 0,26 % (за помалата маса од измерената проба). Додека, определената вредност за истиот параметар во поголемата одвага од примерокот, изнесува 98,52 % ($n = 6$) со $RSD = 0,23$ %.

Содржината на активната компонента што е определена во испитуваните примероци од пестицидната формулација со помош на Методот III изнесува 24,69 % ($n = 6$) со $RSD = 0,16$ % за помалата маса од измерената проба и 25,22 % ($n = 6$) со $RSD = 0,36$ % за поголемата маса од земената проба.

Заклучок

Врз основа на експериментално добиените резултати од разработката на HPLC методите за квантитативно определување на пиримикарб во пестицидната формулација Pirimor 25 WG може да се констатира дека разработените методи I и III на колоните од типот HS 3 x 3 и HS 3 x 3 C-8 со димензии 3,3 cm x 0,46 cm (3 μ m) и нудат можности за брза, прецизна, точна и економична анализа.

Долната граница на детекција (LOD) за методот I и III е определена при сензитивност на детекторот од 0,05 апсорпциски единици (AE), при што за методот I изнесува 2,064 ng (0,4128 μ g/cm³), додека за методот III изнесува 172 pg.

Литература

- Mazzoni E. and Cravedi P. 2002. Analysis of insecticide-resistant *Myzus persicae* (Sulzer) populations collected in Italian peach orchards. *Pest Management Science*. 58, No9,975-980.
- Oakley J. N., Ellis S. A., Wetling M., Walters K. F. A., Young J. E. B. 2005. Responses of summer cereal aphid populations to reduced net aphicide
- Kift N. B., Mead A., Reynolds K., Sime S., Barber M. D., Denholm I., Tetchell, G. M. 2004. The impact of insecticide resistance in the currant-lettuce aphid, *Nasonovia ribisnigri*, on pest management in lettuce. *Agricultural and Forest Entomology*. 6, 295-309.

4. Reynolds S. L., Fussell R. J., Macarthur R. 2005. Investigation into the validity of extrapolation in setting maximum residue levels for pesticides in crops of similar morphology. *Food Additives and Contaminants*. 22, 1, 31-38.
5. White Louise M, Ernst W. R., Julien G., Garron Christine, Leger M. 2006. Ambient air concentrations of pesticides used in potato cultivation in Prince Edward Island, Canada. *Pest Management Science*. 62, 2, 126-136.
6. Bolygó E. and Etreya N. C. 1991. Solid-phase extraction for multi-residue analysis of some triazole and pyrimidine pesticides in water. *Fresenius Journal of Anal. Chem.* 339, 423-430.
7. Jager M. E., Bourbon C. and Levsen K. 1998. Analysis of Pesticide and Their Degradation Products in Rainwater: A Probe Into Their Atmospheric Degradation. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 70, 149-162.
8. Alzaga R., Bayona J.M., Barceló D. 1995. Use of Supercritical Fluid Extraction for Pirimicarb Determination in Soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43 (2) 395-400.
9. Alzaga R., Bayona J.M., Barceló D., 1996. Supercritical Fluid Extraction of Etrazin and its Metabolites from Soil. *J. High Resol. Chromatogr.* 19, 23-26.
10. Rossi S., Dalpero A. P., Ghani S., Colombo R., Sabetini A. G., Girotti S., 2001. Multiresidual method for the gas chromatographic analysis of pesticides in honeybees cleaned by gel permeation chromatography. *Journal of Chromatography A*. 905, 223-232.
11. Menkissoglu-Spirodi U.; Fotopoulou A. 2004. 2003. Matrix effect in gas chromatographic determination of insecticides and fungicides in vegetables. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*. 84, 1-3, 15-27.
12. Szeto Y. and Sundaram K. M. S. 1980. Simplified Method for the Analysis of Some Carbamate Insecticides in Foliage, Forest Soil and Fish Tissue by Direct Gas-Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography*. 200, 179-184.
13. Koinecke A., Kreuzig R. and Bahadir M. 1997. Effects of Modifiers, Adsorbents and Eluents in Supercritical Fluid Extraction of Selected Pesticides in Soil. *Journal of Chromatography A*. 786, 155-161.
14. Kreuzig R., Koinecke A. and Bahadir M. 2000. Use of Supercritical Fluid Extraction in the Analysis of Pesticides in Soil. *J Biochem. Biophys. Methods*. 43, 403-409.
15. Osselton M. D. and Snelling R. D. 1986. Chromatographic identification of pesticides. *Journal of Chromatography*. 368, 265-271.
16. Cabras P., Spanedda L. and Tuberoso C. 1989. Separation of pirimicarb and its metabolites by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*. 478, 250-254.
17. Cabras P., Lalli M. G., Meloni M., Pirisi F. M., Cabitza F., Cubeddu M. and Porcu M. 1988. Determinazione e persistenza dell'insetticida pirimicarb in lattuga. *Riv. Soc. Ital. Sci. Alm.* 17, 61-64.
18. Zhou K., Kerr N., Armour M. A., Rigakis K. and Crown B., 1996. Loss of pirimicarb residues from contaminated fabrics. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 57, 29-33.
19. CIPAC method, 1984. 2074-2077.
20. Bagness J. E. and Sharples W. G. 1974. Determination of the substituted pyrimidine pesticides ethirimol, dimethirimol, pirimiphos-methyl, pirimiphos-ethyl and pirimicarb in technical and formulated materials by gas chromatography. *Analyst*. 99 225-232.
21. Петановска-Илиевска Б., Водеб Л., Велкоска-Марковска Л., (2009). Квантитативно определување на активната компонента пиримимицарб во пестисидната формулација Pirimor 25 WG со помош на HPLC, Заштита на растенија, Скопје, XX (XX), 147-151.
22. Петановска-Илиевска Б., Водеб Л., Велкоска-Марковска Л. (2003). Разработка на HPLC метод за квантитативно определување на активната компонента пиримимицарб во пестисидната формулација Pirimor 25 WG со помош на HPLC, Заштита на растенија, Скопје, XX (XX), 147-151.
23. M. Klys, J. Bialka, Zagadnienia analityczne w zatruciach pestycydami karbaminianowymi, *Arch Med. Sadowej Kriminol.*, 40 (1990) 22-30.