

DOI: <https://doi.org/10.26896/1028-6861-2023-89-9-13-24>

ПРЯМОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЛИФОСАТА И ЕГО МЕТАБОЛИТА В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ МЕТОДОМ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

© Александр Валерьевич Сорокин

Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов (ФГБУ «ВГНКИ»), Россия, 123022, Москва, Звенигородское ш., д. 5; e-mail: alex_sorokin@list.ru

*Статья поступила 11 мая 2023 г. Поступила после доработки 14 июля 2023 г.
Принята к публикации 26 июля 2023 г.*

Глифосат является популярным гербицидом и часто применяется для десикации культурных растений в целях ускорения их созревания. Применение препаратов на его основе приводит к загрязнению сельскохозяйственной продукции, почвы, поверхностных и подземных вод. Для контроля его остаточного содержания разработана методика, позволяющая определять глифосат и аминометилфосфоновую кислоту (АМФК) без предварительной дериватизации. Методика характеризуется относительно простой и экономичной процедурой пробоподготовки. Из образцов сырья растительного происхождения аналиты извлекают уксуснокислым раствором метанола в воде в присутствии динатриевой соли ЭДТА (ЭДТА- Na_2) и дихлорметана; из образцов воды — в присутствии ЭДТА- Na_2 и уксусной кислоты; из образцов почвы — слабым раствором аммиака. Экстракты очищают методом твердофазной экстракции (ТФЭ) и осаждают белки ацетонитрилом. Диапазон определяемых содержаний глифосата и АМФК в сырье растительного происхождения составил 0,1 – 5,0 мг/кг, в поверхностных и подземных водах — 0,001 – 0,05 мг/л (глифосат) и 0,002 – 0,05 мг/л (АМФК), в почве и почвогрунтах — 0,02 – 0,8 мг/кг (глифосат) и 0,04 – 0,8 мг/кг (АМФК). Значения относительного стандартного отклонения находятся в диапазоне 1,8 – 19,5 % при степени извлечения определяемых соединений от 80,5 до 108,1 %. Достигнутые значения пределов определения (ПО) согласуются с установленными максимально допустимыми уровнями в ТР ТС 015/2011 и СанПиН 1.2.3685–21.

Ключевые слова: глифосат; аминометилфосфоновая кислота; сырье растительного происхождения; почва; вода; ВЭЖХ-МС/МС; анализ.

DIRECT DETERMINATION OF GLYPHOSATE AND ITS METABOLITE IN THE PLANT RAW MATERIAL AND ENVIRONMENTAL OBJECTS BY CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

© Alexander V. Sorokin

The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality (FGBU “VGNKI”), 5, Zvenigorodskoe shosse, Moscow, 123022, Russia; e-mail: alex_sorokin@list.ru

Received May 11, 2023. Revised July 14, 2023. Accepted July 26, 2023.

Glyphosate is a popular herbicide often used for desiccation of crops. The use of glyphosate-based chemicals leads to the contamination of agricultural products, soils, surface and groundwater. For safety control of raw materials of the plant origin and environmental objects, a technique based on the tandem chromatography-mass-spectrometry was developed to provide for the quantitative determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) without prior derivatization. The technique is characterized by a relatively simple and cost-effective sample preparation procedure. The compounds are extracted from plant raw materials with an acetic acid solution of methanol in water, in the presence of 2-aqueous disodium salt of ethylenediamine- N,N,N',N' -tetraacetic acid (EDTA- Na_2) and dichloromethane. Extraction of analytes from water samples is carried out in the presence of EDTA- Na_2 and acetic acid; whereas their extraction from soil samples is carried out with a weak solution of ammonia. The extracts are purified by solid phase extraction (SPE), and proteins are precipitated with acetonitrile. Linear-dynamic ranges of glyphosate and AMPA determination are characterized by calibration curves with correlation coefficients (R) ≥ 0.99 . The working range of glyphosate and AMPA determination in raw materials of plant origin was from 0.1 to 5.0 mg/kg; in surface and ground water from 0.001 to 0.05 mg/liter (glyphosate) and from 0.002 to 0.05 mg/liter (AMPA); in soils from 0.02 to 0.8 mg/kg (glyphosate) and from 0.04 to 0.8 mg/kg (AMPA). The values of the relative standard deviation range from 1.8 to 19.5%, with recovery levels

ranging from 80.5 to 108.1%. The achieved values of the determination limits are consistent with the maximum permissible levels indicated in TR CU 015/2011 and SanPiN 1.2.3685–21.

Keywords: glyphosate; aminomethylphosphonic acid; glufosinate; metabolism; animal products; HPLC-MS/MS; analysis.

Введение

Глифосат представляет собой соединение глицина и фосфорной кислоты и относится к группе фосфорорганических соединений. В результате ряда биологических процессов в обрабатываемом с/х сырье, почве, поверхностных и подземных водах может накапливаться не только глифосат, но и его метаболит — АМФК. Окончательная точка в вопросе токсичности и канцерогенности данных соединений не поставлена, а глифосат отнесен к группе соединений, «потенциально канцерогенных для человека» [1]. Наиболее полная информация о проблемах, связанных с его воздействием на живые организмы, была опубликована в 2023 г. группой российских специалистов [2]. Основным звеном, загрязняющим пищевую цепочку глифосатом, является сырье растительного происхождения, а основным способом поступления его в ткани — обработка надземных частей растений. Кроме того, глифосат способен накапливаться в почве и может поглощаться корневой системой растений [3, 4]. Это может оказаться критичным при производстве «органической продукции» на территориях, ранее используемых для культивации генетически модифицированных культур или культур, подвергавшихся десикации. Поэтому необходимо контролировать остаточное содержание глифосата в почвах, поверхностных и подземных водах: в РФ установлены максимально допустимые уровни (МДУ/ВМДУ) в растительном и животном сырье, ПДК/ОДК в почве, ПДК/ОДУ в воде водоемов, ПДК/ОБУВ в воздухе (ТР ТС 015/2011, СанПиН 1.2.3685–21).

Глифосат и АМФК определяют методом tandemной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС) как в «прямом» варианте (без дериватизации), так и с применением таковой. Для прямого определения глифосата и АМФК обычно используют специализированные хроматографические колонки (циклические, ионообменные и др.), а стадия пробоподготовки относительно проста. Дериватизация позволяет применять хроматографические колонки на основе обращенно-фазового сорбента (C_{18}), однако процедура пробоподготовки значительно сложнее, хотя и удается достичь низких пределов определения и приемлемых метрологических характеристик таких методик. В то время как подход к определению данных соединений после их дериватизации подроб-

но изложен в отечественной научной литературе [5, 6], способы прямого определения глифосата и АМФК в ней практически не описаны. Наиболее обстоятельно прямое определение глифосата и АМФК описывает *QuPpe-PO-Method (UERL-SRM)* — постоянно обновляемое официальное руководство ЕС по определению полярных пестицидов [7]. Одним из недостатков данного руководства является избыточное применение метанола на стадии экстракции. Несмотря на то, что метанол способствует осаждению белков, пептидов и взвешенных частиц образца, вместе с этим снижается полнота извлечения глифосата и АМФК [8], а экстракт насыщается липидами (особенно при анализе масляных культур). Такие экстракты существенно снижают ресурс ионообменных хроматографических колонок. Проводимая далее дисперсионная очистка в сочетании с удалением липидов является недостаточной. На данном этапе экстракт будет на 75 % состоять из смеси метанола с ацетонитрилом, которые не позволят задержаться на сорбенте большинству неполярных компонентов образца, экстрагированных из него ранее 50 %-ным метанолом. Осаждение некоторого количества липидов из экстракта вместе с частью белков и пептидов будет обусловлено исключительно добавлением ацетонитрила. На следующем этапе применяют устройство для ультрафильтрации, которое, как и ряд специфических хроматографических колонок, указанных в *QuPpe-PO-Method*, не является общедоступным. Множество пептидов и большинство липидов имеют относительную молекулярную массу ниже 5 кДа, поэтому целесообразность применения устройства ультрафильтрации находится под вопросом. ПО глифосата и АМФК лежит в диапазоне от 0,02 до 0,2 мг/кг в зависимости от объекта исследования. Интересный подход к прямому определению глифосата в сырье растительного происхождения описан в работе [9], в которой аналит извлекают из образца деионизованной водой с дихлорметаном, избавляясь от липидов. Недостатком описанной методики являются отсутствие подкисления на этапе экстракции и полный отказ от применения метанола и солей этилендиаминтетрауксусной кислоты (для снижения негативного влияния двухвалентных металлов на полноту извлечения). Это обусловило высокий ПО при анализе масляных культур:

2 мг/кг в соевых бобах. Примененное авторами разведение экстракта ацетонитрилом (вдвое) недостаточно для полного осаждения белков и пептидов. Определение АМФК в данной работе не рассмотрено. Похожая методика для анализа соевых бобов была предложена в работе [10]. Помимо вышеописанных недостатков, можно отметить отказ от очистки экстракта на сорбентах C_{18} либо на смеси дивинилбензола и N-винилпирролидона (HLB), что может приводить к ухудшению формы хроматографических пиков, низким значениям отношения сигнала к шуму и высоким значениям ПО, а также обуславливать другие сложности при работе с растительным сырьем, отличным от соевых бобов. Для осаждения белков авторы работы [10] применяли метанол, который обладает менее выраженным денатурирующим действием, чем ацетонитрил. Достигнутый ПО составил 0,3 и 0,34 мг/кг для глифосата и АМФК соответственно. В целом большинство опубликованных методик не позволяет достичь ПО глифосата и АМФК менее 0,15 мг/кг (по ТР ТС 015/2011) и описывает анализ ограниченного перечня объектов исследования.

Существующие методики прямого определения глифосата и АМФК в воде и почве достаточно просты в реализации. Так, в работе [11] ПО глифосата в воде оказался достаточно высоким — на уровне 0,05 мг/л. В данной методике не устраняли негативное влияние двухвалентных металлов на полноту извлечения глифосата добавкой натриевой соли ЭДТА. Кроме того, применяемый дихлорметан, образует с водой азеотроп (до 2 % дихлорметана в воде) с температурой кипения 38,1 °С. Поэтому центрифугирования и фильтрации для его устранения может быть недостаточно, а дальнейший анализ такого экстракта может негативно сказаться на работе хроматографической колонки. Недостатком другой работы [12] также является отказ от применения солей ЭДТА и подкисления экстракта. Опубликованы работы по анализу почвы методом ВЭЖХ-МС/МС с ПО глифосата и АМФК 0,05 мг/кг [13]; 4 и 13,3 мкг/кг соответственно [14]. В предложенных методиках анализа почв не учтены их видовое разнообразие и возможное мешающее влияние органических компонентов, входящих в их состав, а длительность пробоподготовки слишком велика [13].

Цель данной работы — разработка методики прямого определения глифосата и АМФК, распространяемой на сырье растительного происхождения, почвы и почвогрунты, поверхностные и подземные воды, лишенной перечисленных выше недостатков и реализуемой с использованием относительно доступной хроматографической колонки.

Экспериментальная часть

Реактивы, материалы, оборудование. В работе применяли следующие реактивы и расходные материалы: метанол 99 % (CAS 67-56-1), ацетонитрил 99 % (CAS 75-05-8), муравьиную кислоту 99 % (CAS 64-18-6), дихлорметан хч (CAS 75-09-2), гексан хч (CAS 110-54-3), ацетат аммония 99 % (CAS 631-61-8), формиат аммония 99 % (CAS 540-69-2), дигидрат динатриевой соли ЭДТА (ЭДТА- Na_2) 99 % (CAS 6381-92-6), глифосат (CAS 1071-83-6), АМФК (CAS 1066-51-9), глифосат-2- $^{13}C,^{15}N$, далее ГФ-*ISt* (CAS 285978-24-7), соляную кислоту 37 % (CAS 7647-01-0), гидроксид аммония 25 % (CAS 1336-21-6), уксусную кислоту 99 % (CAS 64-19-7), сорбент Bondesil C_{18} 40 мкм (Agilent, США), устройство для ультрафильтрации Spin-X UF 10000 MWCO (Corning, США), картриджи для ТФЭ марки Oasis HLB с 60 мг сорбента на основе дивинилбензола и N-винилпирролидона объемом 3 мл (Waters, США). Деионизованную воду получали с помощью системы очистки воды Millipore (Merck, Германия). Экстракцию и перемешивание проводили на шейкерах Reax 2 и Reax Control (Heidolph, Германия), концентрирование экстрактов — на модуле Pierce Reacti-Therm III (Thermo, США). Для анализа использовали масс-спектрометр Shimadzu 8060 с хроматографом Nexera X2 (Shimadzu, Япония). Хроматографическое разделение проводили на колонках: ACQUITY UPLC HSS T3 (зерно 1,8 мкм, внутренний диаметр 2,1 мм, длина 100 мм) (Waters, США), Hypersil Gold aQ (зерно 3 мкм, внутренний диаметр 2,1 мм, длина 100 мм) (Thermo, США), Luna Phenyl-Hexyl (зерно 5 мкм, внутренний диаметр 2 мм, длина 150 мм) (Phenomenex, США).

Исходные растворы стандартов с концентрацией 0,5 мг/мл готовили растворением навесок в деионизованной воде. Концентрации соответствующих рабочих смесей составляли 0,1 (C_1), 0,01 (C_2) и 0,001 мг/мл (C_3). Рабочий раствор ГФ-*ISt* (0,1 мг/мл) готовили растворением его навески в деионизованной воде. Для экстракции глифосата и АМФК из растительного сырья использовали смесь деионизованной воды, метанола и уксусной кислоты в объемном соотношении 79/20/1. Раствор ЭДТА- Na_2 готовили растворением 5 г дигидрата в 45 мл деионизованной воды с использованием ультразвуковой бани.

Общая схема экстракции глифосата и АМФК для образцов сырья растительного происхождения. В полипропиленовую пробирку с 2 г гомогенного образца вносили 20 мкл ГФ-*ISt*, добавляли 19 мл раствора для экстракции и 1 мл раствора ЭДТА- Na_2 . Пробирку встряхивали до отслоения навески от стенок и помещали на вертикальный шейкер Reax 2 для экстракции при

Таблица 1. Условия масс-спектрометрического детектирования**Table 1.** Parameters of mass-spectrometric detection

Определяемое соединение	Ион-предшественник, m/z	Дочерние ионы, m/z	Напряжение, В		
			на первом квадруполе Q1	на столкновительной ячейке CE	на третьем квадруполе Q3
Глифосат	168,2	63,05	21	24	14
		80,9	18	14	17
Глифосат ISt	171,05	62,95	15	24	15
АМФК	110,2	79,15	25	27	29
		63,15	25	22	13

Таблица 2. Условия хроматографического разделения**Table 2.** Parameters of chromatographic separation

Время, мин	Подвижная фаза Б, %	Подвижная фаза А, %	Скорость потока, мл/мин
3	2	98	0,45
3,5	100	0	0,45
3,8 — подача потока с колонки в источник масс-спектрометра			
8	95	5	0,45
8,1	2	98	0,45
9,0 — подача потока с колонки в слив			
13	2	98	0,45

средней скорости вращения ротора. Через 20 мин в пробирку вносили 5 мл дихлорметана и продолжали экстракцию еще в течение 15 мин. Пробирку центрифугировали при 4750 мин⁻¹ и 20 °С в течение 20 мин. При необходимости проводили очистку методом твердофазной экстракции — 1 мл экстракта пропускали через сорбент картриджа Oasis HLB, предварительно активированный и уравновешенный по следующей схеме: 2 мл метанола, 2 мл деионизованной воды, 0,7 мл экстракта (в слив). К 1 мл очищенного таким образом экстракта добавляли 2 мл ацетонитрила и перемешивали, после чего центрифугировали при 4750 мин⁻¹ и 4 °С в течение 20 мин. В новую пробирку переносили 2 мл верхнего слоя и концентрировали до 1 мл при 50 °С. Остаток перемешивали на шейкере Reax Control и центрифугировали при 15 000 мин⁻¹ и 4 °С в течение 20 мин. Полученный экстракт использовали для анализа.

Экстракция из образцов воды. В полипропиленовую пробирку вносили 5 мл образца, 10 мкл ГФ-ISt, 50 мкл уксусной кислоты, 0,2 мл раствора ЭДТА-Na₂ и перемешивали на шейкере Reax Control, а затем центрифугировали при 4750 мин⁻¹ и 4 °С в течение 20 мин. Далее проводили очистку на сорбенте картриджа Oasis HLB и последующие манипуляции, как описано выше.

Экстракция из образцов почвогрунтов. В полипропиленовую пробирку помещали 2 г перемолотого образца и вносили 20 мкл ГФ-ISt, добавляли 20 мл 0,1 %-ного раствора гидроксида аммония и проводили экстракцию на вертикальном шейкере Reax 2 в течение 20 мин при средней скорости вращения ротора. Пробирку с содержимым центрифугировали при 4750 мин⁻¹ и 20 °С в течение 20 мин. Далее проводили очистку на сорбенте картриджа Oasis HLB и последующие манипуляции, как описано выше.

Условия хроматографического разделения и детектирования. Определение глифосата и АМФК осуществляли при отрицательной ионизации. Скорость сканирования/задержки составляла 20 мкс; скорость потока газа в камере распыления — 3 л/мин; скорость газа нагрева — 10 л/мин; температура интерфейса — 300 °С; температура линии осушения — 250 °С; температура блока нагревателя источника — 400 °С; скорость газа осушения — 10 л/мин. Другие параметры работы масс-спектрометра соответствовали указанным в табл. 1.

Хроматографическое разделение проводили в градиентном режиме, в качестве подвижных фаз использовали 5 %-ный раствор метанола в деионизованной воде (Б) и смесь метанола с ацетонитрилом в объемном соотношении 7/3 (А). Параметры работы жидкостного хроматографа с колонкой ACQUITY UPLC HSS T3 указаны в табл. 2. При проведении хроматографического разделения в термостате поддерживали температуру 35 °С. Объем вводимой пробы составлял 10 мкл; температура в отсеке устройства ввода проб — 15 °С. Ориентировочное время выхода определяемых соединений: глифосат (ГФ-ISt) — 4,3 мин, АМФК — 4,4 мин.

Обсуждение результатов

Выбор способа детектирования. Провели актуализацию перечня дочерних ионов глифосата и АМФК для конкретного детектора. Для глифосата ($m/z = 168,2$) были найдены ионы (в порядке снижения интенсивности их сигналов): m/z

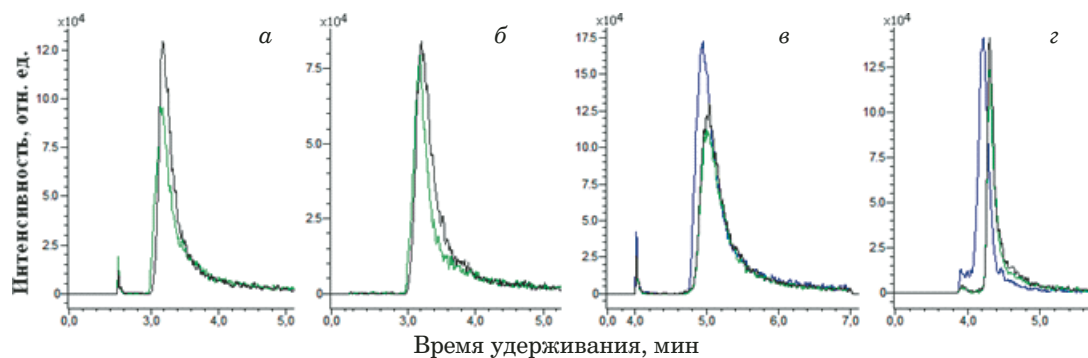


Рис. 1. Масс-хроматограммы глифосата и АМФК, полученные на различных хроматографических колонках: *a* — Hypersil Gold aQ; *b* — Luna Phenyl-Hexyl; *c* — ACQUITY UPLC HSS T3; *d* — ACQUITY UPLC HSS T3 (после доработки градиента)

Fig. 1. Mass-chromatograms of glyphosate and AMPA obtained on various chromatographic columns: *a* — Hypersil Gold aQ; *b* — Luna Phenyl-Hexyl; *c* — ACQUITY UPLC HSS T3; *d* — ACQUITY UPLC HSS T3 (after gradient modification)

78,9 > 63,05 > 80,9 > 150,1 > 124,02. Ион с $m/z = 63,05$ был использован для количественного анализа, так как для него соотношение сигнал/шум было минимальным. Ион с $m/z = 80,9$ был выбран в качестве подтверждающего. Остальные ионы могли использоваться для подтверждения при содержании глифосата больше второго или третьего градуировочного уровня. Для АМФК было найдено два дочерних иона с $m/z = 79,15$ и $63,15$, сигналы которых были свободны от мешающих влияний и имели близкие интенсивности.

В ряде работ для разделения глифосата и АМФК применяли хроматографическую колонку ACQUITY UPLC HSS T3 [15–18]. Первые две работы описывают определение глифосата после дериватизации, а в третьей [17] данную хроматографическую колонку отбраковывают, так как авторы сообщают о выходе АМФК в области мертвого объема колонки. В работе [18] описано определение глифосата и АМФК в воде, однако времена удерживания данных соединений составляли менее 0,5 мин. Следует понимать, что подход к хроматографическому разделению глифосата и АМФК на подобной колонке существенно отличается от подхода к разделению на колонках C_{18} . Вместо градиентного элюирования, начинающегося сразу после ввода образца, целесообразно ввести в программу изократический участок, формируемый органическим растворителем с низкой элюирующей способностью. Время выхода определяемых соединений будет отодвигаться до момента подачи подвижной фазы на основе деионизованной воды. До этого момента рекомендуется направлять поток с колонки в обход источника масс-спектрометра — в слив. Это существенно снизит вероятность загрязнения источника неудерживающимися компонентами образца.

Подбор оптимальной хроматографической колонки и параметров элюирования осуществляли при вводе экстракта гомогената образца бобов сои с добавкой глифосата и АМФК на уровне 1 мг/кг, приготовленного по приведенной ниже схеме. К 4 г молотой сои добавляли 40 мкл раствора C_1 , экстрагировали 20 мл деионизованной воды с 130 мкл соляной кислоты и центрифугировали. Аликвоту верхнего слоя очищали на сорбенте картриджа Oasis HLB. К 1 мл очищенной аликвоты прибавляли 2 мл метанола, осаждали белки и пептиды центрифугированием при 4 °С, затем аликвоту использовали для анализа. Оценивали абсолютную интенсивность сигнала и форму хроматографических пиков (рис. 1).

Первоначально форма хроматографических пиков была наилучшей при использовании колонки Hypersil Gold aQ, однако после доработки схемы пробоподготовки и градиента окончательный выбор был остановлен на колонке ACQUITY UPLC HSS T3 (см. рис. 1, *d*). Условия хроматографического разделения на перечисленных выше колонках представлены в табл. 3. Было установлено, что при применении популярных для отрицательного режима ионизации добавок в подвижную фазу (B) происходит общее снижение интенсивности аналитического сигнала. Для этого готовили несколько подвижных фаз (B) на основе 5 %-ного метанола в деионизованной воде с добавками водного раствора аммиака (до 0,025 %), муравьиной кислоты (до 0,2 %), ацетата аммония (до 5 ммоль/л) (рис. 2).

Анализ сырья растительного происхождения. Основной задачей при анализе растительного сырья было получение экстрактов, в которых можно было бы определять глифосат и АМФК на максимально низком уровне содержаний в широком спектре объектов исследования, с минимальным содержанием компонентов, загрязняющих хромато-масс-спектрометр.

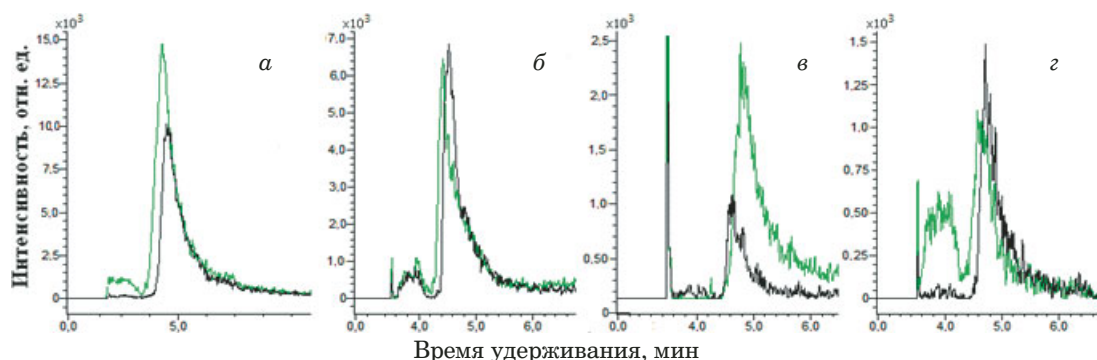


Рис. 2. Масс-хроматограммы глифосата и АМФК с различными добавками в подвижную фазу: *а* — без добавок; *б* — 0,025 %-ный водный раствор аммиака; *в* — 0,2 %-ная муравьиная кислота; *г* — 5 мМ раствор ацетат аммония

Fig. 2. Mass-chromatograms of glyphosate and AMPA with various additives in mobile phase: *a* — without additives; *b* — 0.025% aqueous ammonia solution; *c* — 0.2% formic acid; *d* — 5 mM ammonium acetate solution

Первоначальная схема пробоподготовки оказалась неработоспособной при переходе от молотой сои к другим объектам исследования (горох, пшеница, гречка, рис, чай и др.). На уровне ПО аналитический сигнал был низким, хроматографические пики — широкими с асимметрией заднего фронта, переходящими в фон на уровне 1/2 – 1/3 высоты. Для уменьшения влияния компонентов образца на аналитический сигнал массу навески уменьшили вдвое, объем экстрагента составлял 20 мл. На стадии оптимизации способа экстракции рассматривали следующие варианты экстрагентов и добавок в них: № 1 — 0,08 М соляная кислота с 4 мл дихлорметана; № 2 — 1 %-ная уксусная кислота с 1 мл 10 %-ного раствора ЭДТА- Na_2 и 4 мл дихлорметана; № 3 — смесь 10 %-ного метанола с добавкой до 1 % уксусной кислоты с 1 мл 10 %-ного раствора ЭДТА- Na_2 и 4 мл дихлорметана; № 4 — смесь 20 %-ного метанола с добавкой до 1 % уксусной кислоты с 1 мл 10 %-ного раствора ЭДТА- Na_2 и 4 мл дихлорметана; № 5 — смесь 20 %-ного метанола с добавкой до 1 % уксусной кислоты с 4 мл дихлорметана; № 6 — смесь 20 %-ного метанола с добавкой до 1 % уксусной кислоты с 1 мл 10 %-ного раствора ЭДТА- Na_2 .

После экстракции и центрифугирования проводили очистку на сорбенте картриджа Oasis

HLB, осаждение белков и пептидов ацетонитрилом, центрифугирование и концентрирование экстракта при 50 °С. Сопоставимые результаты были получены при применении экстрагентов № 3, 4 и 6, однако наиболее чистым экстрактом был № 4 (рис. 3). Несмотря на то, что присутствие дихлорметана при экстракции, видимо, снижает растворимость глифосата (азеотроп дихлорметана с водой), его применение оправдано для устранения липидов и лучшего разделения фаз при работе со сложными объектами исследования и маслянистыми культурами. Был также подобран объем ацетонитрила для осаждения белков и пептидов из экстракта с минимальными потерями глифосата и АМФК: 2 мл на 1 мл экстракта. Вместо дихлорметана для обезжиривания допустимо применять гексан в том же объеме, однако при этом после центрифугирования органический слой окажется над экстрактом.

После выбора способа экстракции оценивали целесообразность применения очистки на сорбенте картриджа Oasis HLB и сорбенте Bondesil C_{18} (навеска 0,5 г на картридж). Для этого экстракт образца делили на три части. Для первой части осуществляли пробоподготовку в соответствии с полным протоколом (с Oasis HLB); вторую часть очищали с помощью Bondesil C_{18} ; третья часть не подлежала очистке на сорбентах

Таблица 3. Условия хроматографического разделения смеси глифосата и АМФК на различных колонках

Table 3. Parameters of chromatographic separation of glyphosate and AMPA mixture on different columns

Наименование колонки	Подвижные фазы	Программа разделения
Hypersil Gold aQ	А — ацетонитрил Б — 15 %-ный метанол	До 2 мин — 85 % А, к 2,5 мин — к 100 % Б, до 7 мин — 100 % Б, в 7,1 мин — 100 % А до 14 (16 для Luna Phenyl-Hexyl) мин — 100 % А (скорость потока — 0,5 (0,6 для Luna Phenyl-Hexyl) мл/мин, 30 °С)
Luna Phenyl-Hexyl	А — ацетонитрил Б — 20 %-ный метанол	
ACQUITY UPLC HSS T3 (рис. 1, в)	А — 50 %-ный метанол в ацетонитриле Б — 20 %-ный метанол	До 3 мин — 100 % А, к 4 мин — к 100 % Б, до 10 мин — 100 % Б, в 10,1 мин — 100 % А, до 17 мин — 100 % А (скорость потока — 0,45 мл/мин, 30 °С)

(проводили осаждение компонентов образца ацетонитрилом и дальнейшие манипуляции, как описано выше). Протокол активации и уравнивания картриджа Oasis HLB изложен выше. Активацию и уравнивание картриджа с сорбентом Bondesil C₁₈ проводили 4 мл метанола, 4 мл деионизованной воды и 2 мл экстракта — в слив. В результате эксперимента было установлено, что применение картриджа Oasis HLB с 60 мг сорбента позволяет получать наиболее чистые экстракты с максимальными сигналами глифосата и АМФК. При отсутствии картриджа Oasis HLB очистку можно проводить и на сорбенте Bondesil C₁₈, разница между полученными результатами незначительна. Потери при отказе от дополнительной очистки зависят от объекта исследования, например, для сои, гречки, льна и кукурузы они составляют 2 – 3, 4 – 7 и 11 – 12 % соответственно, в то время как для гороха, киноа, чечевицы, овса и др. — меньше 2 %. Следует отметить, что для экстрактов, прошедших очистку, форма хроматографических пиков определяемых соединений была лучше, а значения отношения сигнала к шуму (S/N) для вторых дочерних ионов — выше. В целом применение дополнительной очистки продлевает срок службы хроматографической колонки и целесообразно при использовании масс-спектрометров с низкопроизводительными ионными источниками, а также при анализе таких объектов, как чай (все виды), почва и почвогрунты, загрязненные поверхностные воды и комбикорма на основе сырья растительного происхождения. Результаты анализа различных объектов с добавкой глифосата 0,1 мг/кг представлены в табл. 4 (результаты были рассчитаны по градуировочной зависимости, построенной для молотой сои без дополнительной очистки экстракта).

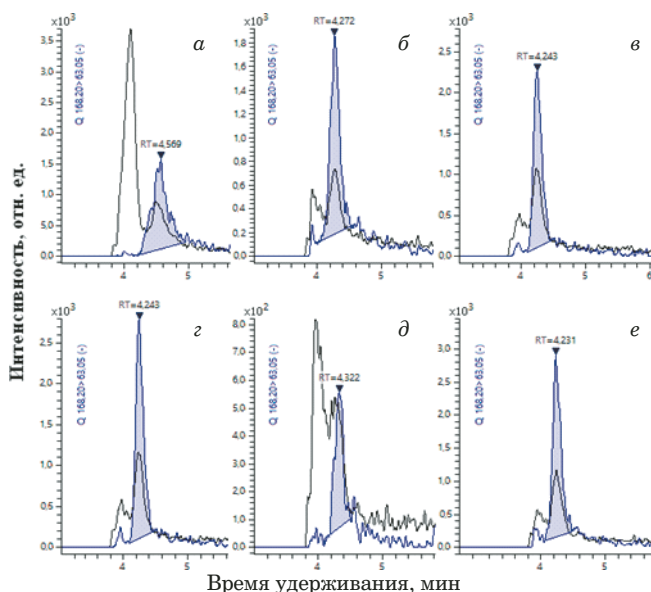


Рис. 3. Масс-хроматограммы дочерних ионов глифосата при различных способах экстракции на уровне 0,1 мг/кг: а — соляная кислота и дихлорметан; б — уксусная кислота, ЭДТА-Na₂ и дихлорметан; в — 10 %-ный метанол, уксусная кислота, ЭДТА-Na₂ и дихлорметан; г — 20 %-ный метанол, уксусная кислота, ЭДТА-Na₂ и дихлорметан; д — 20 %-ный метанол, уксусная кислота и дихлорметан; е — 20 %-ный метанол, уксусная кислота и ЭДТА-Na₂

Fig. 3. Mass-chromatograms of glyphosate product ions obtained for different ways of the extraction at a level of 0.1 mg/kg: а — HCl with dichloromethane; б — acetic acid, EDTA-Na₂ and dichloromethane; в — 10% methanol, acetic acid, EDTA-Na₂ and dichloromethane; г — 20% methanol, acetic acid, EDTA-Na₂ and dichloromethane; д — 20% methanol, acetic acid and dichloromethane; е — 20% methanol, acetic acid and EDTA-Na₂

Анализ чая и комбикормов. Предлагаемая методика позволяет проводить количественный анализ чая и ряда комбикормов. При этом в ходе пробоподготовки чая дихлорметан не применяют, а очистка экстракта на картридже Oasis HLB

Таблица 4. Сравнение площадей пиков глифосата с очисткой на Oasis HLB и без нее

Table 4. Comparison of peak areas of glyphosate cleaned on an Oasis HLB and “zero-SPE” cleanup

Название образца (лат.)	Площадь, отн. ед. (Oasis HLB)	Площадь, отн. ед. (без очистки)	Результат анализа, мг/кг
Соя (<i>Glycine max</i>)	22 480	21 943	0,100
Горох (<i>Pisum sativum</i>)	31 376	31 387	0,104
Чиа (<i>Salvia hispanica</i>)	39 586	43 176	0,109
Киноа (<i>Chenopodium quinoa</i>)	16 857	16 724	0,091
Лен (<i>Linum usitatissimum</i>)	25 097	23 387	0,090
Овес (<i>Avena sativa</i>)	39 349	39 829	0,082
Рис (<i>Oryza sativa</i>)	74 251	72 891	0,086
Пшеница (<i>Triticum aestivum</i>)	56 061	57 898	0,109
Ячмень (<i>Hordeum vulgare</i>)	40 967	40 457	0,078
Кукуруза (<i>Zea mays</i>)	59 220	52 395	0,079
Гречка (<i>Fagopyrum esculentum</i>)	32 678	31 419	0,092
Чечевица (<i>Lens culinaris</i>)	33 217	33 022	0,106

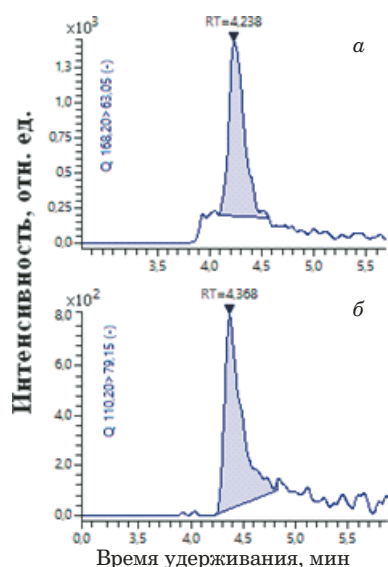


Рис. 4. Масс-хроматограммы экстракта образца чая с добавкой 0,1 мг/кг глифосата (а) и АМФК (б)

Fig. 4. Mass-chromatograms of tea sample extract with additives of 0.1 mg/kg of glyphosate (a) and AMPA (b)

является обязательной для устранения содержащихся в экстракте естественных красителей, дубильных веществ, полифенолов и сохранения ПО на уровне 0,1 мг/кг. Получаемые градуировочные зависимости для определения глифосата и АМФК, построенные на основе добавок рабочих растворов в образцы чайного листа, имеют вид: $y = 0,8311420x - 0,003157974$ и $y = 0,7458113x - 0,006998737$ ($R \geq 0,99$) соответственно. Масс-хроматограммы глифосата и АМФК показаны на рис. 4.

Возможность анализа комбикормов была оценена с использованием шести различных образцов. В большинстве случаев был достигнут ПО, равный 0,1 мг/кг для обоих соединений при значении $S/N \geq 10$. Однако в образцах, содержащих минеральные компоненты, отмечалось сильное подавление сигнала АМФК (рис. 5), поэтому для

Таблица 5. Результаты анализа образцов сои с естественным уровнем загрязнения глифосатом и АМФК, полученные с использованием разных методик

Table 5. Comparison of the results of analysis of soybean samples with natural levels of contamination with glyphosate and AMPA obtained by different methods

Номер образца	Без очистки на Oasis HLB	С очисткой на Oasis HLB	МУ А-1/043
Глифосат, мг/кг			
175	2,67	2,54	2,25
176	1,02	0,97	0,90
179	1,23	1,28	1,14
181	1,67	1,68	1,44
АМФК, мг/кг			
175	1,76	1,82	1,62
176	1,07	0,99	0,77
179	1,28	1,32	1,43
181	1,47	1,44	1,59

таких объектов данная методика неприемлема. При анализе образцов кормов применяли полный протокол пробоподготовки с дихлорметаном и очисткой на картридже Oasis HLB.

Сравнение разработанного подхода с литературными данными. Сравнивали воспроизводимость результатов анализа по данной методике с полученными по официальной методике, используемой в рутинной лабораторной практике — МУ А-1/043 «Методические указания по определению глифосата и продуктов его метаболизма в кормах и кормовом сырье» (ФР.1.31.2023.45591), основанной на предварительной дериватизации глифосата и АМФК [5]. В качестве образцов для проведения исследования использовали молотую сою с естественным уровнем загрязнения, поступившую в лабораторию в рамках контроля безопасности импортируемого в 2023 г. сырья. Результаты сравнения представлены в табл. 5.

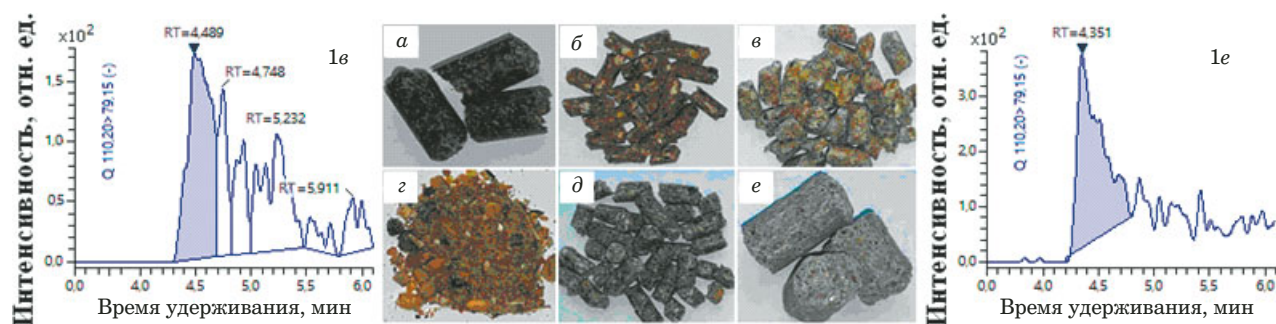


Рис. 5. Виды комбикормов, проанализированных в данной работе (а – е) с добавкой 0,1 мг/кг АМФК и масс-хроматограммы образцов в и е (1а, 1е) с пиком АМФК

Fig. 5. Various types of the feed-stuff analyzed in this study (a – f) at 0.1 mg/kg AMPA spike level and mass-chromatograms of samples c and e (1a, 1e) with AMPA peak

Применительно к приведенному в данной работе способу детектирования с применением хроматографической колонки ACQUITY UPLC HSS T3 была проверена работоспособность методики ЕС [7]. Для этого в 5 г молотой сои, не содержащей глифосата и АМФК, вносили 50 мкл раствора C_2 , проводили экстракцию и остальную пробоподготовку по прописи *QuPPE-PO-Method* с небольшими модификациями. Вместо соли ЭДТА- Na_4 использовали ЭДТА- Na_2 из-за ее доступности и доказанной эффективности в отношении связывания двухзарядных ионов металлов. Вместо устройства ультрафильтрации на 5 кДа использовали устройство на 10 кДа. Полученный после пробоподготовки экстракт не анализировали сразу, как указано в прописи, а смешивали с ацетонитрилом в соотношении 1/1; при этом происходило обильное образование взвешенных частиц. Полученную смесь центрифугировали для разделения фаз и только после этого анализировали. Установлено, что методика ЕС не является оптимальной для определения глифосата и АМФК на уровне 0,1 мг/кг в имеющихся условиях, а получаемые таким образом экстракты требуют дополнительной очистки или изменения условий экстракции (рис. 6).

Анализ воды и почвы (почвогрунтов). Глифосат и АМФК извлекали из образцов воды, отобранных из прудов в период активного снеготаяния. Для этого к 5 мл образца добавляли 10 мкл ГФ-ISt, 5 мкл раствора СЗ и перемешивали. Рассматривали три способа, обеспечивающих максимальное извлечение и очистку экстракта от примесей (рис. 7):

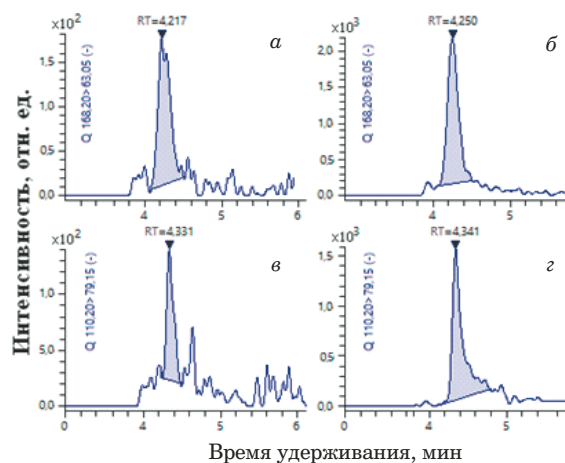


Рис. 6. Масс-хроматограммы экстракта образца молотой сои после пробоподготовки в соответствии с *QuPPE-PO-Method* (а) и после очистки на Oasis HLB (б)

Fig. 6. Mass-chromatograms of ground soybean sample extract after sample preparation according to *QuPPE-PO-Method* (a) and after purification on Oasis HLB (b)

№ 1 — центрифугирование при 4750 мин⁻¹ и 20 °С, очистка на Oasis HLB, смешивание образца с ацетонитрилом в соотношении 1/2, центрифугирование при 4750 мин⁻¹ и 4 °С, концентрирование 2 мл экстракта вдвое, финальное центрифугирование при 15 000 мин⁻¹ и 4 °С;

№ 2 — добавление перед первым центрифугированием 5 мкл 25 %-ного раствора аммиака, дальнейшая пробоподготовка — как в способе № 1;

№ 3 — добавление перед первым центрифугированием 50 мкл уксусной кислоты и 0,2 мл 10 %-ного раствора ЭДТА- Na_2 , дальнейшая пробоподготовка — как в способе № 1.

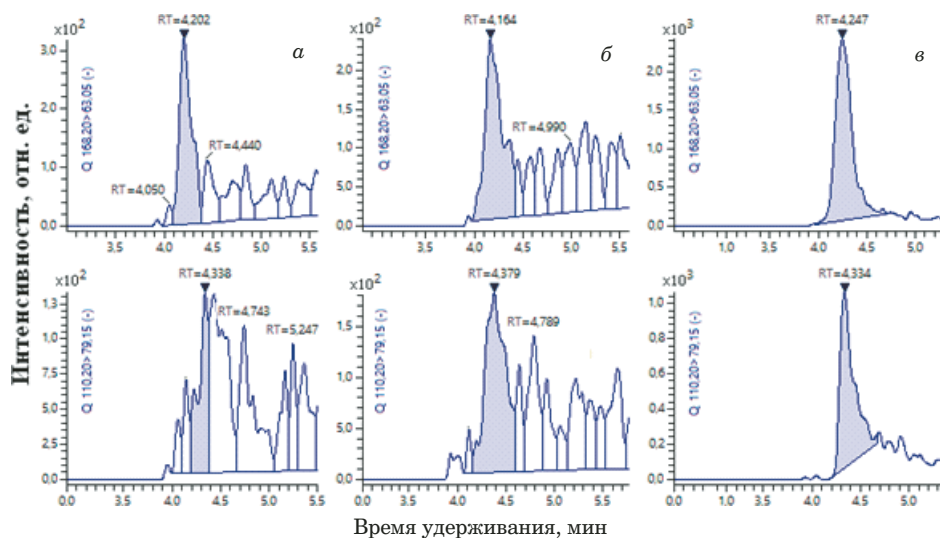


Рис. 7. Масс-хроматограммы образцов воды, полученных при различных способах экстракции глифосата (ГФ) и АМФК: а — экстракция без добавок; б — добавка раствора аммиака; в — добавка уксусной кислоты и ЭДТА- Na_2

Fig. 7. Mass-chromatograms of water samples after different modes of glyphosate and AMPA extraction: а — without any additives; б — with ammonia solution; в — with acetic acid and EDTA- Na_2

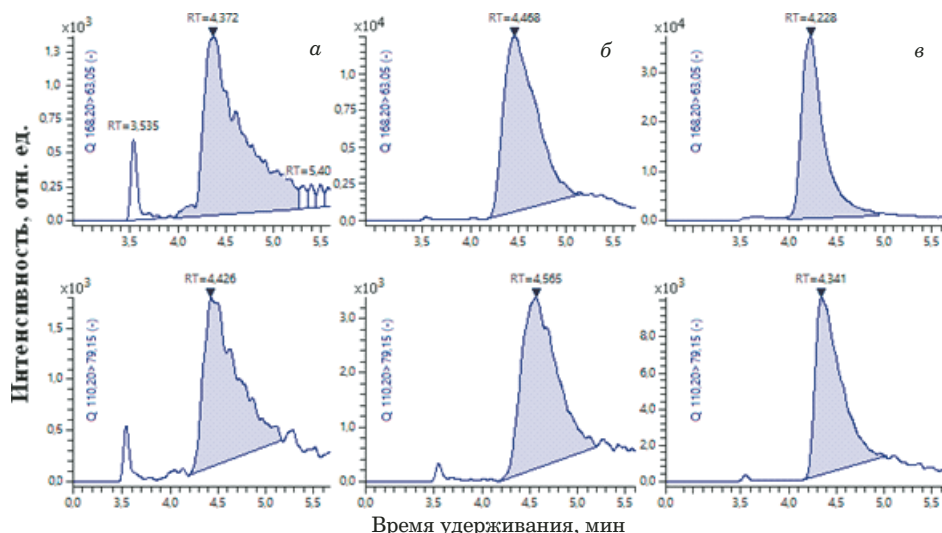


Рис. 8. Масс-хроматограммы образцов почвы, полученные при различных способах экстракции глифосата (ГФ) и АМФК на уровне 0,05 мг/кг: *а* — с уксусной кислотой; *б* — с уксусной кислотой и ЭДТА-Na₂; *в* — с раствором аммиака

Fig. 8. Mass-chromatograms of soil samples after different modes of glyphosate and AMPA extraction at a level of 0.05 mg/kg: *a* — with acetic acid; *b* — with acetic acid EDTA-Na₂; *c* — with ammonia solution

Способ № 3 лег в основу методики анализа воды. Увеличение вносимого объема раствора ЭДТА-Na₂ до 0,25 – 0,3 мл приводило к увеличению интенсивности сигнала глифосата и, напротив, к подавлению сигнала АМФК.

Извлечение глифосата и АМФК из почвы и почвогрунтов исследовали при анализе образца гумусового горизонта дерново-подзолистой почвы, который был предварительно высушен при 80 °С и усреднен с применением аналитических сит. К 2 г образца добавляли 20 мкл ГФ-ISt, 10 мкл раствора С₂ и перемешивали. Рассматривали три способа пробоподготовки данного образца:

№ 1 — экстракция 20 мл 1 %-ной уксусной кислоты, центрифугирование при 4750 мин⁻¹ и 20 °С, очистка на Oasis HLB, смешивание с ацетонитрилом в соотношении 1/2, центрифугирование при 4750 мин⁻¹ и 4 °С, концентрирование 2 мл экстракта вдвое, финальное центрифугирование при 15 000 мин⁻¹ и 4 °С;

№ 2 — экстракция 19 мл 1 %-ной уксусной кислоты с 1 мл ЭДТА-Na₂, дальнейшая пробоподготовка — как в способе № 1;

№ 3 — экстракция 20 мл 0,1 %-ного раствора аммиака, дальнейшая пробоподготовка — как в способе № 1.

Способ № 3 лег в основу методики анализа почв как наиболее эффективный и позволяющий определять глифосат и АМФК от 0,02 и 0,04 мг/кг соответственно. Увеличение содержания аммиака в два раза приводило к ухудшению формы хроматографических пиков определяемых соединений. Применение экстрагирующего раствора на основе метанола, а также уменьшение объема

экстрагирующего раствора или увеличение навески образца не давали преимуществ по сравнению с выбранным протоколом (рис. 8).

Методика была апробирована при анализе таких видов почв (почвогрунтов), как суглинок, чернозем, почвогрунт парковой зоны (с песком мелкой фракции), почвогрунт на основе дерново-подзолистой почвы (средний и слабый подзол), почвогрунт на основе дерново-подзолистой почвы (грунтово-слабоглеевой). Были достигнуты ПО 0,02 и 0,04 мг/кг для глифосата и АМФК соответственно. Проверили возможность анализа донных отложений на основе листового опада (перегноя) и почвогрунта парковой зоны (нарушенная дерново-подзолистая), а также сапропеля. В первом случае возможно определение глифосата на уровне ПО, однако сигнал АМФК был слабо выражен, хроматографический пик имел асимметрию заднего фронта. Во втором случае анализ в имеющихся условиях невозможен из-за сильного подавления сигнала компонентами образца.

Применение пластиковых или стеклянных расходных материалов. В ходе разработки методики была проверена гипотеза, согласно которой глифосат способен связываться с активными центрами стекла посуды, используемой на различных этапах пробоподготовки [19]. Для этого готовили образцы молотой сои и почвы с добавкой определяемых соединений на уровне ПО. Пробоподготовку проводили в соответствии с протоколами максимальной очистки, как указано выше. Очищенные экстракты делили на две равные части, одну из которых переносили в вialу с полипропиленовой вставкой, вторую — в

стеклянную вials без вставки. Обе части экстракта параллельно проанализировали в соответствии с методикой на 1-й, 3-й, 4-й и 5-й дни с момента приготовления. Хранение осуществляли в устройстве ввода проб при 15 °С. Оценивали изменение площадей пиков относительно результатов, полученных в первый день (в %), интенсивность сигнала и форму пиков. В экстрактах из стеклянных виал интенсивность аналитического сигнала была выше, в среднем — на 10 (соя) – 20 (почва) %, что было обусловлено общим повышенным уровнем фона. Форма хроматографических пиков глифосата на протяжении всего эксперимента была удовлетворительной вне зависимости от вида экстракта и способа хранения. В экстрактах, находящихся в стеклянных виалах, наблюдалась асимметрия заднего фронта пика АМФК: на уровне 15 – 20 % высоты в случае сои и на уровне 60 % высоты в случае почвы. Поэтому применение вставок из полипропилена является обязательным при анализе почв и почвогрунтов и рекомендуемым при анализе растительного сырья (в случае необходимости хранения экстрактов более суток перед анализом). Общий характер изменения площадей пиков (содержания) глифосата во времени иллюстрирует рис. 9.

Апробация методики. Проводили апробацию полного протокола пробоподготовки для сырья растительного происхождения (молотая соя), воды, почвы (дерново-подзолистая, средний и слабый подзол). Для молотой сои проводили один эксперимент с использованием чистого образца (бланк), шести образцов для построения градуировочной зависимости, двух образцов контроля качества (QC) и 24 «неизвестных» образцов с добавками, соответствующими трем уровням градуировочной зависимости (по 8 образцов

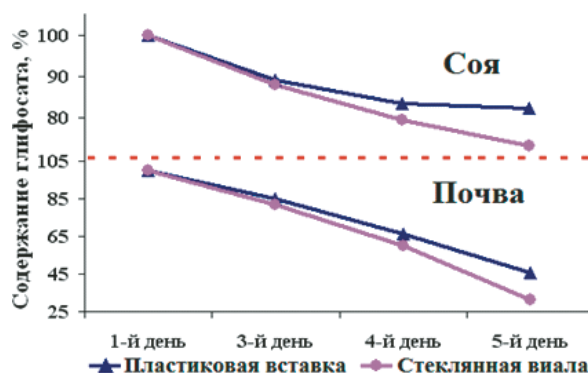


Рис. 9. Изменение содержания глифосата в экстрактах при хранении в стеклянной и пластиковой посуде

Fig. 9. Change in the glyphosate content in soybean and soil extracts, when stored in glass and plastic ware

на уровень). Для воды и почвы количество «неизвестных» образцов было увеличено до 32 из-за необходимости получения данных на уровне ПО АМФК (2ПО_{глифосата}). Рабочие диапазоны градуировочных зависимостей для сырья растительного происхождения — 0,1 – 5,0 мг/кг; для почвы — 0,02/0,04 (АМФК) — 0,8 мг/кг; для воды — 0,001/0,002 (АМФК) — 0,05 мг/л. В образцы сои вводили следующие добавки рабочих растворов: C₂ — 20 мкл; C₁ — 20, 100 мкл (что соответствовало 0,1/1,0/5,0 мг/кг); ГФ-ISt — 20 мкл. В образцы почвы вводили добавки рабочих растворов C₃ — 40, 80 мкл; C₂ — 40, 160 мкл (что соответствовало 0,02/0,04/0,2/0,8 мг/кг); ГФ-ISt — 20 мкл, в образцы воды — C₃ — 5, 10, 50 мкл; C₂ — 25 мкл (что соответствовало 0,001/0,002/0,01/0,05 мг/л); ГФ-ISt — 10 мкл. Для всех объектов исследования подтверждена возможность получения линейных градуировочных зависимостей в указанных диапазонах со значениями коэффициентов корреляции R ≥ 0,99. Полученные значения пра-

Таблица 6. Результаты апробации разработанной методики (n = 8; P = 0,95)

Table 6. Aprrobation of the developed method (n = 8; P = 0.95)

	Глифосат				АМФК			
	Добавка, мг/кг	$\bar{x} \pm \Delta$, мг/кг	S _r , %	Recovery, %	Добавка, мг/кг	$\bar{x} \pm \Delta$, мг/кг	S _r , %	Recovery, %
Сырье растительного происхождения (молотая соя)	0,1	0,11 ± 0,01	10,9	106,0	0,1	0,08 ± 0,01	7,5	80,5
	1,0	1,01 ± 0,02	2,6	101,1	1,0	1,01 ± 0,03	4,0	100,6
	5,0	5,09 ± 0,09	2,4	101,8	5,0	5,17 ± 0,06	1,8	103,3
Почва	0,02	0,020 ± 0,002	1,5	98,0	0,04	0,04 ± 0,01	19,5	96,8
	0,2	0,20 ± 0,01	10,3	99,5	0,2	0,20 ± 0,02	16,3	101,5
	0,8	0,78 ± 0,04	8,2	97,8	0,8	0,87 ± 0,04	7,2	108,1
Вода*	0,001	0,00094 ± 0,00008	12,1	93,5	0,002	0,0021 ± 0,0002	16,1	105,0
	0,01	0,0102 ± 0,0002	11,0	101,7	0,01	0,0096 ± 0,0009	13,8	96,7
	0,05	0,051 ± 0,003	7,3	102,2	0,05	0,051 ± 0,004	10,5	102,2

* Результаты приведены в мг/л.

вильности не превышали $\pm 20\%$ от установленного значения. Разброс результатов анализа образцов QC был не более 15% от исходного значения. Полученные значения относительного стандартного отклонения (S_r), среднего (\bar{x}), стандартного отклонения (S) и степени извлечения (Recovery) приведены в табл. 6. Исходя из полученных данных, можно сделать вывод об эффективности разработанного протокола пробоподготовки, а методику на его основе можно рекомендовать к валидации и аттестации для последующего применения в рутинной лабораторной практике.

Заключение

Разработанная методика позволяет определять глифосат и АМФК в широком спектре объектов исследования, существенно экономя время анализа и расходные материалы по сравнению с методиками с предварительной дериватизацией. Методика предназначена для организаций, профессионально занимающихся контролем безопасности сельскохозяйственной продукции и объектов окружающей среды. Проведенная апробация и проверка работоспособности на различных объектах исследования позволяют считать данную методику универсальной, позволяющей получать достаточно воспроизводимые результаты анализа.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Guyton K. Z., Loomis D., Grosse Y., et al. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate / *Lancet Oncol.* 2015. Vol. 16. N 5. P. 490 – 491. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)70134-8
2. Hishov A. S., Makarov D. A., Kish L. K. Toxic properties and maximum residue levels of glyphosate in food and feed products / *J. Agric. Environ.* 2023. N 3(31) [in Russian]. DOI: 10.23649/jae.2023.31.3.002
3. Kanissery R., Gairhe B., Kadyampakeni D., et al. Glyphosate: Its Environmental Persistence and Impact on Crop Health and Nutrition / *Plants.* 2019. Vol. 8. N 11. P. 499. DOI: 10.3390/plants8110499
4. Saunders L. E., Pezeshki R. Glyphosate in Runoff Waters and in the Root-Zone: A Review / *Toxics.* 2015. Vol. 3. N 4. P. 462 – 480. DOI: 10.3390/toxics3040462
5. Sorokin A. V. Determination of Glyphosate, Its Metabolite, and Glufosinate in Products of Plant Origin by Chromatography-Mass Spectrometry / *J. Anal. Chem.* 2023. Vol. 78. N 1. P. 96 – 104. DOI: 10.1134/S1061934822120140
6. Sorokin A. V., Tretyakov A. V., Kish L. K. Selective method for quantitative determination of glyphosate, aminomethylphosphonic acid, and glufosinate in animal products using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLS-MS/MS) / *Industr. Lab. Diagn. Mater.* 2023. Vol. 89. N 2 (Part I). P. 13 – 22 [in Russian]. DOI: 10.26896/1028-6861-2023-89-2-I-13-22
7. Anastassiades M., Wachtler A. K., Kolberg D. I., et al. Quick Method for the Analysis of Highly Polar Pesticides in Food Involving Extraction with Acidified Methanol and LC- or ICMS/MS Measurement — I. Food of Plant Origin (QuPPE-PO-Method). Version 12. — https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?CntID=887&LabID=200&Lang=EN (accessed 10.05.2023).
8. Sorokin A. V. Monitoring the safety of plant raw materials when using glyphosate at the growing stage / *Kontrol' Kachestva Prod.* 2023. N 3. P. 49 – 54 [in Russian]. DOI: 10.35400/2541-9900-2023-03-49-54
9. Botero-Coy A. M., Ibáñez M., Sancho J. V., et al. Direct liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of underivatized glyphosate in rice, maize and soybean / *J. Chromatogr. A.* 2013. Vol. 1313. P. 157 – 165. DOI: 10.1016/j.chroma.2013.07.037
10. Helio A. M.-J., Daniel T. L., Alexandre Y. W., et al. An alternative and fast method for determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) residues in soybean using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry / *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2009. Vol. 23. N 7. P. 1029 – 1034. DOI: 10.1002/rcm.3960
11. Li X., Xu J., Jiang Y., et al. Hydrophilic-interaction liquid chromatography (HILIC) with dad and mass spectroscopic detection for direct analysis of glyphosate and glufosinate residues and for product quality control / *Acta Chromatogr.* 2009. Vol. 21. N 4. P. 559 – 576. DOI: 10.1556/achrom.21.2009.4.4
12. Guo H., Gao Y., Guo D., et al. Sensitive, rapid and non-derivatized determination of glyphosate, glufosinate, bialaphos and metabolites in surface water by LC-MS/MS / *SN Appl. Sci.* 2019. Vol. 1. 305. DOI: 10.1007/s42452-019-0306-x
13. Zhang P., Rose M., Van Zwieten L. Direct Determination of Glyphosate and its Metabolite AMPA in Soil Using Mixed-Mode Solid-Phase Purification and LC-MS/MS Determination on a Hypercarb Column / *J. AOAC Int.* 2019. Vol. 102. N 3. P. 952 – 965. DOI: 10.5740/jaoacint.18-0287
14. Ping H., Zhao F., Li C., et al. Rapid and simultaneous determination of glyphosate, glufosinate, and their metabolites in soil by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry / *Chin. J. Chromatogr.* 2022. Vol. 40. N 3. P. 273 – 280. DOI: 10.3724/SPJ.1123.2021.08005
15. Zhang Y., Dang Y., Lin X., et al. Determination of glyphosate and glufosinate in corn using multi-walled carbon nanotubes followed by ultra high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry / *J. Chromatogr. A.* 2020. Vol. 1619. 460939. DOI: 10.1016/j.chroma.2020.460939
16. Wumbei A., Goeteyn L., Lopez E., et al. Glyphosate in yam from Ghana / *Food Addit. Contam.: Part B.* 2019. Vol. 12. N 4. P. 231 – 235. DOI: 10.1080/19393210.2019.1609098
17. Hongyue G., Leah S. R., Chad E. W., et al. Direct and sensitive determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in environmental water samples by high performance liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry / *J. Chromatogr. A.* 2016. Vol. 1443. P. 93 – 100. DOI: 10.1016/j.chroma.2016.03.020
18. Bo P., Lei J., Bingjie W., et al. Determination of glyphosate and its main metabolite aminomethyl phosphonic acid in water by two methods: direct injection and pre-column derivatization / *J. Nanjing Agric. Univ.* 2020. Vol. 43. N 5. P. 853 – 861. DOI: 10.7685/jnau.201911031
19. Gosciny S., Unterluggauer H., Aldrian J., et al. Determination of glyphosate and its metabolite AMPA (aminomethylphosphonic acid) in cereals after derivatization by isotope dilution and UPLC-MS/MS / *Food Anal. Methods.* 2012. Vol. 5. P. 1177 – 1185. DOI: 10.1007/s12161-011-9361-7