

# ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКІВ АТРАЗИНУ

## в рослинній матриці люцерни методом надвисокоелективної рідинної хроматографії та тандемної мас-спектрометрії

**Мета.** Перевірити ефективність визначення залишків атразину в люцерні за допомогою надвисокоелективної рідинної хроматографії і тандемної мас-спектрометрії. **Методи.** Для отримання зразків провели одноразове обприскування люцерни в польових умовах. Перед визначенням залишків атразину підготували рослинний матеріал. Для цього зразки (0,2 г) подрібнили у рідкому азоті, додали 5 мл води, ацетонітрилу і ацетатної кислоти 1% для екстракції. Для очищення та концентрування додавали до 1 мл супернатанту 50 мг  $C_{18}$ , 50 мг PSA і 100 мг безводного сульфату магнію. Умови хроматографії та мас-спектрометрії: швидкість потоку 0,4 мл/хв при 40°C підтримували для розділення за допомогою хроматографічних колонок Agilent,  $C_{18}$ . Умови виявлення: температура газу десольватації — 350°C; тиск небулайзерного газу — 40,0 psi; напруга розпилення іонів — 4500 В; температура нагрівачів MS 1 і MS 2 — 300°C; цільову сполуку кількісно визначили за допомогою параметрів збору MS/MS (режим MRM). **Результати.** У діапазоні 0,01—1,0 мг/л масова концентрація гербіциду атразину та відповідна площа піку показали хорошу лінійну залежність із коефіцієнтом детермінації 0,9999. За додавання атразину 0,1—5,0 мг/кг середнє значення його вмісту в рослинах люцерни становило 102,6—107,5% за відносного стандартного відхилення 0,28—6,85%. У кінцевому результаті виявлення залишків гербіциду у люцерні за допомогою надвисокоелективної рідинної хроматографії та тандемної мас-спектрометрії його вміст становив 0,011 мг/кг (МДР у Китаї для зернових складає 0,05 мг/кг). **Висновки.** Метод має просту операцію попередньої обробки, високе середнє значення визначення та точність, хороший ефект розділення та очищення, короткий час аналізу. Він поєднує два традиційних методи в один, який є простішим і швидшим. Чутливість і відтворюваність відповідають вимогам загальних токсиколо-

---

<sup>1,2</sup>ІНХУЕЙ ЧЖУ  
<sup>1,3</sup>Т.О. РОЖКОВА,  
кандидат біологічних наук  
<sup>1</sup>Сумський національний аграрний університет, вул. Г. Кондратьєва, 160, м. Суми, 40021, Україна;  
<sup>2</sup>Хенанський науково-технічний інститут, м. Сінсян, 453003, КНР  
<sup>3</sup>Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, вул. Академіка Заболотного, 154, м. Київ, 03143, Україна

---

гічних тестів, що було підтверджено реальними тестами. Метод придатний для виявлення залишків гербіциду в зразках люцерни.

**гербіцид; рослинний зразок; межа виявлення; межа кількісного визначення**

Атразин є селективним системним блокуючим досходовим і післясходовим гербіцидом, який широко використовується для контролю широколистяних бур'янів на кукурудзі, пшениці, сорго та інших культурах [1—3]. Його основним механізмом дії є пригнічення перенесення електронів пластохінону в ФСII, переривання процесу передачі енергії, припинення фотосинтезу та, нарешті, пригнічення росту рослин [4]. Атразин зберігається в навколишньому середовищі пів року, може надходити в річки та озера через поверхневий стік та вимивання ґрунту, забруднювати джерела води [5]. Дослідження показали, що атразин має негативний вплив на здоров'я людини, порушує діяльність ендокринної, лімфатичної, репродуктивної та імунної систем, приводячи до вад розвитку й мутації організму [6]. Атразин має

тривалий період напіврозпаду в навколишньому середовищі, він часто залишається в ґрунті близько року, що може легко спричинити токсичний вплив на наступні культури [7]. Агентство з охорони навколишнього середовища США (EPA) оприлюднило остаточні результати біологічної оцінки атразину, який, як було визначено, має «потенційний несприятливий вплив (LAA)» на види та середовища проживання, тому в різних країнах посилили моніторинг цього гербіциду [8]. Люцерна є однією з найважливіших бобових культур у помірних регіонах Китаю [9]. Завдяки високому врожаю, багатій поживній цінності, хорошим смаковим якостям і високій засвоюваності вона стала всесвітньо відомою «Королевою трав» [10]. Люцерна є середовищем для існування живильних або азотфіксуючих бактерій для забезпечення органічним азотом ґрунту польової сівозміни. Широке використання та великі залишки атразину в ґрунті, ймовірно, впливають на ріст люцерни [11, 12]. Через рік після застосування атразину на кукурудзяних полях він все ще може мати вплив на чутливі до атразину культури в сівозміні [13]. Коли для виробництва кукурудзи використовується у сівозміні люцерна, залишки цього гербіциду можуть негативно позначитись на останній, додатково впливаючи на якість продуктів тваринництва, зокрема молочних [14]. Тому контроль залишків атразину в рослинах люцерни має велике значення для покращення умов довкілля та розвитку хімічного захисту культур.

В останні роки основні методи виявлення залишків атразину

включають газову хроматографію (GC) [15, 16], газову хромато-мас-спектрометрію (GC-MS) [17, 18], газову хроматографію і тандемну мас-спектрометрію (GC-MS/MS) [19] та рідинну хроматографію-тандемну і мас-спектрометрію (LC-MS/MS) [20]. Метод надвисокоєфективної рідинної хроматографії та тандемної мас-спектрометрії (UPLC-MS/MS) має такі переваги, як невеликий розмір зразка, проста робота та висока точність, і поступово в останні роки почав застосовуватися для виявлення атразину [21, 22]. Нині немає даних про метод одночасного визначення залишків атразину в рослинній матриці люцерни за допомогою надвисокоєфективної рідинної хроматографії і тандемної мас-спектрометрії (UPLC-MS/MS). Це дослідження дало можливість швидко виявляти залишки атразину в рослинах люцерни за допомогою методу QuEChERS для екстракції та очищення, водночас з методом UPLC-MS/MS. Метод відрізняється швидкістю, простотою, ефективністю та невисокою вартістю. Він дає можливість швидко та точно виявляти залишки атразинового гербіциду в люцерні у великих кількостях зразків.

**Метою дослідження** було перевірити ефективність визначення залишків атразину в люцерні методом надвисокоєфективної рідинної хроматографії і тандемної мас-спектрометрії (UPLC-MS/MS).

**Матеріали та методи.** У березні 2022 р. в с. Піньюань, експериментальній базі Академії сільськогосподарських наук Хенань, було проведено експеримент з визначення залишків гербіцидів. Посів люцерни у фазі 3–7 листків обробили гербіцидом (38% розчином атразину) у дозі 280 мл/м<sup>2</sup>. Оброблена площа становила 15 м<sup>2</sup>, повторення — триразове. Після збору врожаю 1 кг рослин люцерни упаковали та відправили на зберігання при –20°C для тестування. Залишки гербіциду виявляли за допомогою надвисокоєфективної рідинної хроматографії та тандемної мас-

спектрометрії (оснащений хроматографічною колонкою Agilent EC-C<sub>18</sub>, 21 × 100 mm × 2.7 μm, Agilent Technologies 1290, USA).

### **Попередня обробка зразка**

Зразки по 0,2 г подрібнили до порошкоподібного стану у рідкому азоті та перенесли в гостродонну центрифужну пробірку об'ємом 50 мл. Після додавання 5,0 мл води та 10,0 мл ацетонітрилу з 1% ацетатною кислотою пробірку струшували протягом 1 хв, потім додали 1,0 г NaCl. Після струшування ще впродовж хвилини провели центрифугування при 4000 об./хв протягом 5 хв. Зібрали 1 мл супернатанту у центрифужну пробірку об'ємом 2 мл, що містила 50 мг C<sub>18</sub>, 50 мг PSA і 100 мг безводного сульфату магнію. C<sub>18</sub> може очищувати екстракт від білків та ДНК. PSA в основному використовують для попередньої обробки зразків та видалення залишків пестицидів, органічних кислот, пігментів, іонів металів і фенолів. Пробірку вібрували протягом 1 хв перед другим центрифугуванням при 12000 об./хв впродовж 5 хв. Остаточний супернатант (1 мл) профільтрували через фільтр 0,22 мкм у пробірку для автоматичного пробовідбору для LC-MS/MS.

### **Умови хроматографії та мас-спектрометрії**

Швидкість потоку 0,4 мл/хв при 40°C підтримували для розділення за допомогою хроматографічних колонок Agilent, C<sub>18</sub>. Використано градієнтний режим хроматографування з використанням розчинів А і В. Умовами виявлення були температура газу десольватації 350°C; тиск небулайзерного газу (N<sub>2</sub>) 40,0 psi; напруга розпилення іонів — 4500 В; температура нагрівачів MS 1 і MS 2 — 300°C. Атразин кількіс-

но визначили за допомогою параметрів збору MS/MS (режим MRM). Час утримування атразину становив 1,339 хв.

### **Результати та обговорення**

**1. Оптимізовані умови хроматографії та мас-спектрометрії.** У режимі позитивних іонів ESI атразин може отримати стабільний і чутливий вихідний іон. Аналіз вторинного мас-спектра виконано для атразину. Умови мас-спектра, такі як дочірні іони, напруга, конус-отвір і енергія зіткнення оптимізовані, і нарешті були отримані параметри мас-спектра оптимального режиму моніторингу множинної реакції (MRM) для атразину (табл. 1).

Оптимізація рухомої фази допомагає підвищити ефективність розділення та чутливість цільової речовини [23]. Рухома фаза в експерименті складалась з А і В, де: А — ацетонітрил, В — вода; або А — ацетонітрил і В — 0,01% аміачна вода; або А — ацетонітрил і В — 0,1% водний розчин форміатної кислоти. Рухомі фази використовували для дослідження впливу на тип піку та інтенсивність реакції атразину. Результати показали, що коли А (ацетонітрил) і В (вода) використовувалися як рухома фаза, інтенсивність відповіді атразину була низькою, і спостерігався хроматографічний пік. Коли застосували як А — ацетонітрил і як В — 0,01% аміачну воду, то час утримування збільшився, форма піку була очевидно покращена, а значення відповіді підвищилось у 10 разів. Таким чином, це дослідження остаточно визначило розділення на хроматографічній колонці Т3, А ацетонітрил і В 0,1% водний розчин форміатної кислоти як рухому фазу, процедуру градієнтного елювання рухомої фази (табл. 2). За цих умов відносний час утримування атразину становив приблизно 1,366 хв (рис. 1).

### **1. Параметри налаштування UPLC-MS/MS для атразину**

Речовина	Час утримування, хв	Кількісний та якісний іон (m/z)	Фрагментатор, V	Енергія зіткнення, eV
Атразин	1,339	216 > 174	30	17
		216 > 68,2	25	25

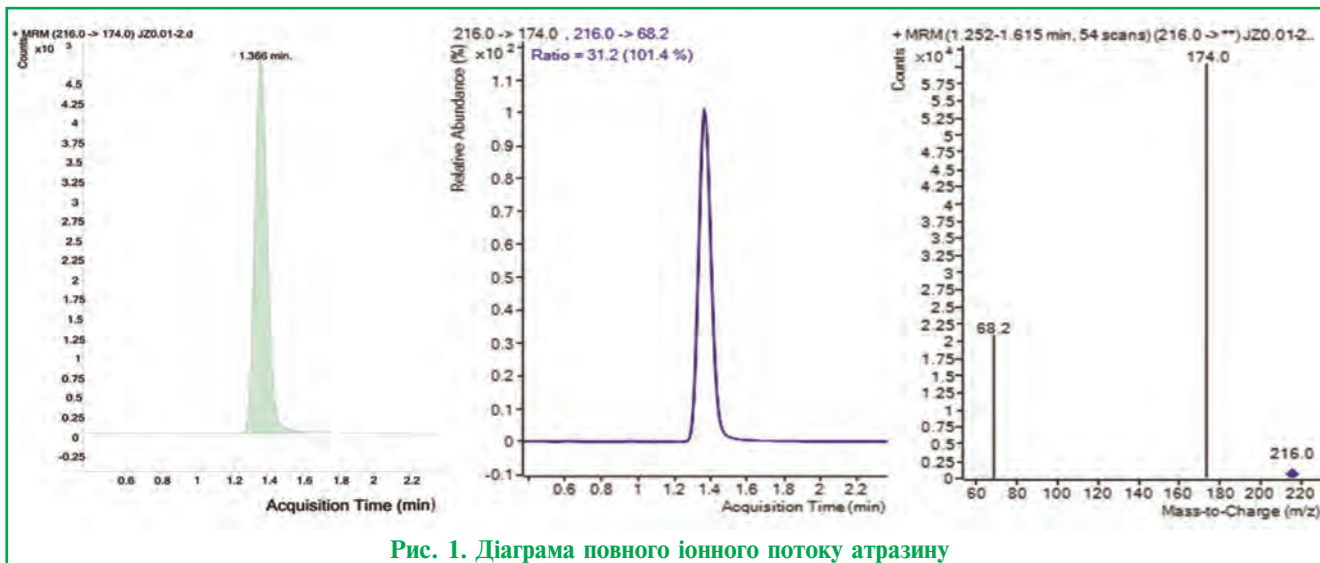


Рис. 1. Діаграма повного іонного потоку атразину

## 2. Градієнтні умови елюювання рухомої фази

Час, хв	Потік, мл/хв	A/%	B/%
0.00	0,4	60,00	40,00
2.00	0,4	60,00	40,00
2.00	0,4	5,00	95,00
4.00	0,4	5,00	95,00

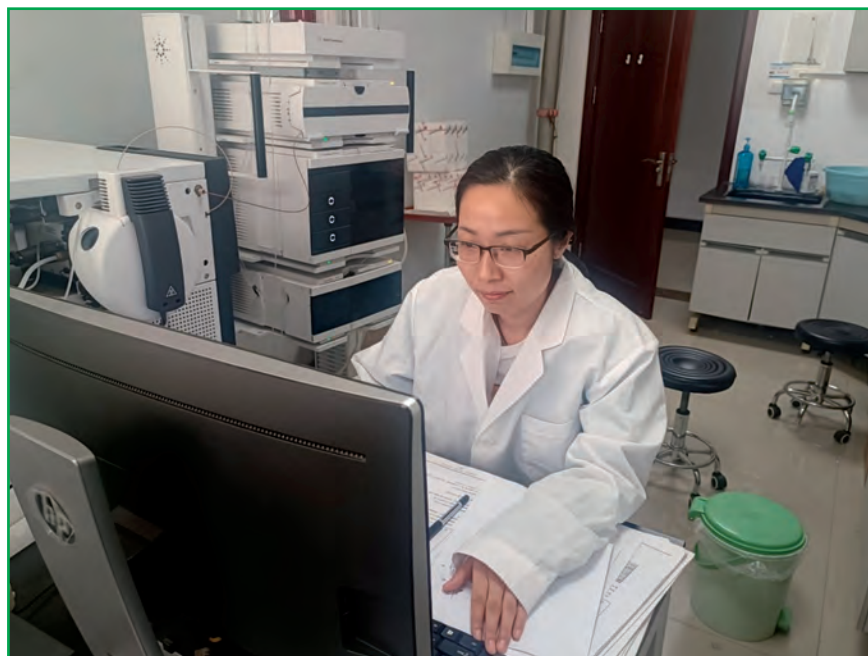


Рис. 2. Виявлення та аналіз даних за допомогою надвисокопродуктивної рідинної хроматографії та тандемної мас-спектрометрії

**2. Оптимізація методів підготовки проб.** Виявлення залишків пестицидів можна загалом розділити на три частини: екстракція пестициду, очищення, аналіз пестициду. Оскільки в зразках, зібраних під час польового випробування, є багато домішок,

то пестицид, який потрібно перевірити в лабораторних зразках, спочатку слід вилучити та очистити, щоб зменшити вміст інших домішок крім цільової сполуки, та відповідати вимогам визначення [24]. Щоб зменшити вплив матриці на досліджу-

вану речовину, було досліджено вплив трьох очисників ( $C_{18}$ , PSA та  $C_{18} + PSA$ ) на швидкість відновлення. Результати показали, що коли  $C_{18} + PSA$  використовувався як засіб для очищення, інтенсивність реакції двох досліджуваних речовин була найвищою. У той же час порівнювали кількості  $C_{18}$  і PSA, і результати показали, що коли кількість  $C_{18}$  і PSA досягає 100 мг, значення відповіді досліджуваної речовини досягає максимуму. Після цього інтенсивність реакції більше не зростала зі збільшенням кількості адсорбенту. Таким чином, 50 мг  $C_{18} + 50$  мг PSA використовували як засіб для очищення перед обробкою.

**3. Лінійна залежність, межа виявлення та межа кількісного визначення.** Коефіцієнт детермінації ( $x$ ) становив 0,9999 в діапазоні 0,01–1,00 мг/л, лінійна залежність ( $Y$ ) цього методу оптимальна і описується рівнянням  $Y = 1541340,7x + 19861,1$ . Коефіцієнт детермінації та лінійна залежність відповідають вимогам виявлення.

**4. Коректність та точність методу.** Було додано три рівних концентрації змішаного стандартного розчину атразину в модельні зразки рослин люцерни, щоб провести експеримент із додаванням і виділенням, і створено п'ять паралельних груп для кожної стандартної концентрації. Після вихрового змішування застосували метод попередньої об-

робки для UPLC-MS/MS детектування і розрахунку середньої швидкості вилучення та відносного стандартного відхилення (RSD) (табл. 3).

### 5. Визначення фактичних проб.

Залишки пестицидів, що потрапляють у природне середовище, тісно пов'язані з мікроорганізмами в ґрунті та деякими факторами зовнішнього середовища, такими як температура, вологість, рН, іони металів, світло тощо. Випробування проведено в різних регіонах і в різні часи. Екологічні та кліматичні фактори призводять до розкладання залишків хімічних пестицидів у рослинах і ґрунті. Була створена технологія швидкого виявлення залишків гербіцидів у рослинах [25–27]. Метод надвисокоєфективної рідинної хроматографії та тандемної мас-спектрометрії був застосований для визначення вмісту атразину у відібраних зразках люцерни. Відповідно до GB2763-2021 Китаю, максимальна межа залишків атразину в зернових становить 0,05 мг/кг. Результати випробувань показали (за дози пестициду 280 мл/м<sup>2</sup>), що вміст атразину в зразках люцерни становив 0,011 мг/кг.

### ВИСНОВКИ

У дослідженні оптимальна рухома фаза та дозування адсорбенту були визначені шляхом оптимізації методу попередньої обробки зразка та параметрів приладу. На основі UPLC-MS/MS було запропоновано аналітичний метод для визначення залишків атразину в рослинах люцерни. Процедура градієнтного елюювання була короткою за часом, і залишки пестициду атразину в рослинах люцерни можна було проаналізувати за 4 хв, покращуючи ефективність виявлення. Результати показали хорошу лінійну залежність між масовою концентрацією гербіциду атразину та відповідною площею піку з коефіцієнтом детермінації 0,9999. При рівні додавання 0,1–5,0 мг/кг середнє значення становить 102,6–107,5%, відносне стандартне відхилення (RSD) — 0,28–6,85%, межа ви-

### 3. Середнє значення і відносне стандартне відхилення (RSD) методу

Сполука	Концентрація, мг/кг	Середнє значення, %	RSD, %
Атразин	0,1	107,5	2,8
	0,5	107,7	2,8
	5,0	102,6	6,9

явлення — 0,001 мкг/кг, а кількісна межа — 0,003 мкг/кг. Ці показники відповідають вимогам методу аналізу залишків. Метод є точним, надійним і відтворюваним, він має нижчу межу кількісного визначення та вищу чутливість до атразину в рослинах люцерни. Досліджений метод може стати еталонним для виявлення залишків атразину в іншій сільськогосподарській продукції.

**Фінансування:** дослідження проводили в рамках ключової науково-технічної програми провінції Хенань (Китай) «Дослідження та застосування технології контролю залишків гербіцидів у ґрунті» (номер гранту 168902209020).

**Конфлікт інтересів:** автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

### ЛІТЕРАТУРА

- Cécile C.L.G., Monfort C., Rouget F., Ronan G.R., Pett C., Durand G., Cordier S. (2011). Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the PELAGIE birth cohort. *Environ. Health Perspect*, 119(7), 1034-1041. doi:10.1289/ehp.1002775
- Kauffmann C.O.S., Bayer E.S.E.A., Raphael L.Y.S., Raphi T.M. (2000). Novel Methodology for Enzymatic Removal of Atrazine from Water by CBD-Fusion Protein Immobilized on Cellulose. *Environmental Science & Technology*, 34, 1292-1296. doi:10.1021/es990754hhttps://doi.org/10.1289/ehp.1002775https://doi.org/10.1289/ehp.1002775
- Yang X., He Y., Liu B., Guo H., Xue L., Duan Y., Hu H., Gao F., Zhou L., Zhang J.J. (2022). Alfalfa's response to atrazine stress and its secreted atrazine metabolites. *Ecotoxicol Environ Saf*, 241, 113-141. doi:10.1016/j.ecoenv.2022.113780
- Hayes T.B., Collins A., Lee M., Mendoza M., Noriega N., Stuart A.A., Vonk A. (2002). Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant dose. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 99(8), 5476-548. doi:10.1073/pnas.082121499
- Bethsatt J., Aaron C. (2006). 'European Union Bans Atrazine, While the United States Negotiates Continued Use'. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 12, 260-67. doi:10.1179/oeh.2006.12.3.260
- Graymore M., Stagnitti G. (2001). 'Impacts of atrazine in aquatic ecosystems'. *Environement International*, 26, 483-95. doi:10.1016/S0160-4120(01)00031-9
- Zhang J.J., Xu F.F., Lu S.F., Jin H. (2017). 'Detoxification of atrazine by Low Molecular Weight Thiols in Alfalfa (*Medicago sativa*)'. *Chem Res Toxicology*, 30, 1835-46. doi:10.1021/acs.chemrestox.7b00166
- Sass J.B., Colangelo A. (2006). European Union bans atrazine, while the United States in *Medicago sativa* through multiple pathways. *J. Agric. Food Chem*, 62 (40), 9657-9668. doi:10.1179/oeh.2006.12.3.260
- Zhang J.J., Lu Y.C., Yang H. (2014). Chemical modification and degradation of atrazine in *Medicago sativa* through multiple pathways. *J. Agric. Food Chem*, 62 (40), 9657-9668. doi:10.1021/jf503221c
- Zhang J.J., Lu Y.C., Zhang S.H., Lu F.F., Yang H. (2016). Identification of transcriptome involved in atrazine detoxification and degradation in alfalfa (*Medicago sativa*) exposed to realistic environmental contamination. *Ecotoxicology. Environ. Saf*, 130, 103-112. doi:10.1016/j.ecoenv.2016.04.009
- Zhang J.J., Gao S., Xu J.Y., Lu Y.C., Lu F.F., Ma L.Y., Su X.N., Yang H. (2017). Degrading and phytoextracting atrazine residues in rice (*Oryza sativa*) and growth media intensified by a phase-II mechanism modulator. *Environ. Sci. Technol*, 51, 11258-11268. doi:10.1021/acs.est.7b02346
- Zhang J.J., Yang H. (2021). Advance in methodology and strategies to unveil metabolic mechanisms of pesticide residues in food crops. *J. Agric. Food Chem*, 69, 2658-2667. doi:10.1021/acs.jafc.0c08122
- Shen D.Y., Yuan X.Y., Liu Y.H., Zhong D.L., Mo R.H., Tang F.S. (2017). Determination of 21 pesticide residues in bamboo shoots by dispersion solid phase purification and gas chromatography. *Food science*, 38 (16), 268-273. doi:10.7506/spkx1002-6630-201716043
- de Koning S., Janssen H.G., Brinkman T. (2009). Modern Methods of Sample Preparation for GC Analysis. *Chroma*, 69 (1), 33-78. doi:10.1365/s10337-008-0937-3
- Wittmann C. (2007). Fluxome analysis using GC-MS. *Microb Cell Fact*, 6, 6-12. doi:10.1186/1475-2859-6-6
- Bim G., Gregory C., Roberts S., Decsari P.A. (2002). Willy Maenhaut P. Köll. Water-soluble organic compounds in biomass burning aerosols over Amazonia 1. Characterization by NMR and GC-MS. *Journal of geophysical research*, 107(12), 21-32. doi:10.1029/2001JD000336
- Bai X.J., Wu Y., Niu Y., Zhao Z.D., Wang X.J. (2014). Establishment of a GC-MS/MS method for the determination of Acetochlor and atrazine residues in maize. *Agricultural science of Jiangsu*, 42 (11), 334-336. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.119
- Jia C.H., Zhu X.D., Zhao E.C., He M., Chen L., Yu P.Z., Wang J.H. (2014). Determination of Atrazine and Nicosulfuron Residues in Maize by Liquid Chromatography Mass Spectrometry. *Jiangsu agricultural science*

ces, 42(2), 253–255. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.02.237

19. Guo L.Q., Xu J., Dong F.S., Liu X.G., Zheng Y.Q. (2012). Simultaneous determination of nicosulfuron atrazine and fluroxypyrin soil and corn by ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry. Chinese Journal of Pesticide Science, 14(2), 177–184. doi:10.3969/j.issn.1008-7303.2012.02.10

20. Wen J., Zhang L.J., Liu L.J., Gao Y.J., Bai Y.M., Li C.Z. (2023). Determination of Chlorantraniliprole, Flubendiamide and 2-Methyl-4-chlorophenoxyacetic Acid Residues in Milk by Ultra Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 44(5), 285–291. doi:10.13386/j.issn1002-0306.2022050039

21. Wang C.L., Liu J., Xu Z.L., Huang X.Q., Lin Z.S., Tan Q.P., Wang Y., Wang H. (2022). Determination of paraquat residues in 6 sample matrices by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 42(12), 2155–2162. doi:10.6155/j.0254-1793.2022.12

22. Cheng W.L., Song W.Y., Wang H.D., Xu T.X., Wu C.L., Wang C.J., Yang D.S. (2023). Determination of Residual Degradation of S-Metolachlor residue in Soil and Sugar Beet by Qu EChERS-GC/MS. Xinjiang Agricultural Sciences, 60(3), 706–714. doi:10.6048/j.issn.1001-4330.2023.03.022

23. She L.K., Hu D.Y., Zhang Y.P., & Zhang K.K. (2012). Characteristics of Hydrolysis and Photolysis of Candidate Pesticide Cyanonitrate. Pesticide, 51(8), 75–77. doi:10.16820/j.cnki.1006-0413.2012.08.009

24. Strathmann T.J., Stone A.T. (2001). Reduction of the carbamate pesticides oxamyl and methomyl by dissolved Fe II and Cu I. Environmental Science & Technology. Pesticide, 35(12), 2462–469. doi:10.1021/es001824j

25. Tian Q., Zhou Z.Q., Ren L.P., Jiang S.R., Yang L. (2005). Research progress on photochemical degradation of pesticides in waterbodies. Pesticide, 44(6), 247–230. doi:10.16820/j.cnki.1006-0413.2005.06.002

26. Cheng W.L., Song W.Y., Wang H.D., Xu T.X., Wu C.L., Wang C.J., Yang D.S. (2023). Determination of Residual Degradation Dynamics of Proisochlor Alachlor in Soil and Beet Based on Qu EChERS GC/MS. Xinjiang Agri-

cultural Sciences, 60(3), 706–714. doi:10.6048/j.issn.1001-4330.2023.03.022

27. Yu Q., Zhang P., He Y., Xu Z., He X., Hu Y., Zhang H., He L. (2019). Dissipation Dynamics and Residue of Four Herbicides in Paddy Fields Using HPLC-MS/MS and GC-MS. Int. J. Environ. Res. Public Health, 16(2), 236. doi:10.3390/ijerph16020236.

<sup>1,2</sup>Zhu Yinghui

ORCID: 0000-0001-7860-1111

<sup>1,3</sup>Rozhkova T.

ORCID: 0000-0002-0791-9736

<sup>1</sup>Sumy National Agrarian University, 160, G. Kondratieva str., Sumy, 40021, Ukraine

<sup>2</sup>Henan Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou, 450000, China

<sup>3</sup>Institute of Microbiology and Virology named after D.K. Zabolotny National Academy of Sciences of Ukraine, 154, Zabolotny str., Kyiv, 03143, Ukraine

### Determination of atrazine residues in alfalfa plant matrix by ultra-high-performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry

**Goal.** The purpose of this study was to verify the effectiveness of determination of atrazine residues in alfalfa using ultra-high-performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry. **Methods.** To obtain samples, alfalfa was sprayed once in the field. Plant material was prepared before determination of atrazine residues. For this, the samples (0.2 g) were crushed in liquid nitrogen, 5 ml of water, acetonitrile, and 1% acetic acid were added for extraction. For purification and concentration, 1 mL of supernatant was added to 50 mg of C<sub>18</sub>, 50 mg of PSA, and 100 mg of anhydrous magnesium sulfate. Chroma-

tions: flow rate of 0.4 mL/min at 40°C was maintained for separation using Agilent, C<sub>18</sub> chromatographic columns; detection conditions — desolvation gas temperature and flow 350°C, respectively; nebulizer gas pressure 40.0 psi; ion spray voltage 4500 V; the temperature of the heater MS 1 and MS 2 is 300°C; target compound was quantified using MS/MS acquisition parameters (MRM mode). **Results.** In the range of 0.01–1.0 mg/L, the mass concentration of atrazine herbicide and the corresponding peak area showed a good linear relationship, with a coefficient of determination of 0.9999. When adding atrazine at 0.1–5.0 mg/kg, the average value of its content in alfalfa plants was 102.6%–107.5%, and the relative standard deviation was 0.28%–6.85%. The final residue detection result in alfalfa by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry was 0.011 mg/kg (the maximum permissible level in China for cereals is 0.05 mg/kg). **Conclusions.** The method has simple pretreatment operation, high average detection value and precision, good separation and purification effect, short analysis time, and is suitable for the detection of atrazine. It combines two traditional methods into one that is simpler and faster. The sensitivity and reproducibility meet the requirements of general toxicological tests, which have been confirmed by real tests. The method is suitable for the actual needs of detecting herbicide residues in alfalfa samples.

**herbicide; plant sample; limit of detection; limit of quantitation**

Надійшла до редакції: 05.08.2024

Прийнята до друку: 04.10.2024

Надруковано й опубліковано онлайн: грудень 2024

Науково-виробничий журнал  
**КАРАНТИН і ЗАХИСТ РОСЛИН**  
 Ми знаємо, як зберегти врожай без шкоди для себе й довкілля  
 Передплатний індекс – 74668