

Tối ưu hóa điều kiện phân tích bằng phương pháp sắc kí lỏng siêu hiệu năng cho các hợp chất thuộc họ CPA trong mẫu nước sông

Lê Hải Đường*, Nguyễn Thị Thu Thảo, Mai Thanh Nhân

Khoa Dược, Đại học Nguyễn Tất Thành

*lhduong@ntt.edu.vn

Tóm tắt

Nghiên cứu trình bày phương pháp sắc kí khối phổ ghép với đầu dò hệ ba tứ cực (UPLC-MS/MS) để phân tích dư lượng thuốc diệt cỏ thuộc các hợp chất họ CPA bao gồm 2,4-D, MCPA, MCPP, 2,4-DP, 2,4-DB, 2,4,5-T trong nền mẫu nước sông. Phương pháp định lượng bằng LC-MS/MS và kỹ thuật ESI (-) kết hợp chế độ ghi phổ MRM, sử dụng cột Acquity UPLC BEH RP18, 1.7 μ m, 2.1 $\times$ 100mm. Chúng tôi đã tối ưu hóa các thông số khối phổ để xác định được mảnh ion m/z thông qua chương trình chạy gradient với thể tích tiêm 10 μ l, nhiệt độ cột 40°C, tốc độ dòng 0.3ml.phút⁻¹, thành phần pha động gồm acid formic 0.01% và acetonitril. Vì vậy, các điều kiện sắc kí đã tối ưu phù hợp để định lượng các hợp chất thuộc họ CPA (chlorinated phenoxy acid) trong nền mẫu nước sông.

Nhận 08.11.2018
Được duyệt 06.03.2019
Công bố 26.03.2019

Từ khóa
Chlorinated phenoxy acid (CPA),
UPLC-MS/MS,
dư lượng thuốc diệt cỏ

© 2019 Journal of Science and Technology - NTTU

1 Mở đầu

Trong thuốc diệt cỏ, hợp chất họ CPA (chlorinated phenoxy acid) có vai trò quan trọng. Họ CPA có cấu tạo chung gồm gốc phenoxy được gắn với mạch acid carboxylic. Trên vòng benzene của gốc phenoxy gắn một hay nhiều nhóm thế Cl⁻ [1]. Loại thuốc này có tính chọn lọc hấp thụ qua rễ, lá, sau đó di chuyển vào mô phân sinh của tế bào thực vật gây ra hiệu ứng formon trên cỏ lá rộng, phá hoại màng tế bào, ức chế quang hợp làm rối loạn sự phát triển bình thường của cây cỏ dại[2]. Tuy nhiên, do không kiểm soát chặt chẽ trong quá trình sử dụng thuốc diệt cỏ nên dẫn đến tình trạng ô nhiễm môi trường nghiêm trọng. Các nghiên cứu cho thấy việc ô nhiễm này là nguyên nhân gây ra các khối u ác tính ở người và gây quái thai ở động vật[3]. Các tác giả đã khảo sát được các yếu tố ảnh hưởng cho 8 chất thuốc diệt cỏ phân cực gồm Dicamba, 2,4-D, MCPA, 2,4-DP, MCPP, 2,4,5-T, 2,4-DB, 2,4,5-TP. Ở Việt Nam, theo QCVN 38:2011/BTNMT và QCVN 15:2008/BTNMT nồng độ tối đa cho phép trong nước mặt dùng cho mục đích bảo vệ đời sống thủy sinh của 2,4-D là 0.2mg.l⁻¹, 2,4,5-T là 0.1mg.l⁻¹. Trong môi trường đất, dư lượng tối đa cho phép của 2,4-D và MCPA là 0.1mg.kg⁻¹[4]. Do đó, nhu cầu kiểm soát dư lượng thuốc diệt cỏ cũng như các hợp chất liên quan là vấn

đề rất cấp thiết hiện nay. Vì vậy, mục tiêu đề tài là tối ưu các điều kiện sắc kí khối phổ và chương trình gradient để áp dụng phân tích các hợp chất họ CPA trong nền mẫu nước sông.

2 Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1 Nguyên vật liệu

Dung môi: Acetonitrile, methanol, formic acid (HPLC grade $\geq$ 99.9%) (tất cả dung môi trên đều là Merck), nước sử dụng là nước loại ion. Chất chuẩn 2,4-D, MCPA, 2,4-DP, MCPP, 2,4,5-T, 2,4-DB (Sigma Aldrich). Dung dịch chuẩn được pha riêng ở nồng độ 1000mg.l⁻¹ trong ACN. Các chuẩn bảo quản trong điều kiện -20°C.

Thiết bị

Hệ UPLC-MS/MS kết hợp đầu dò ba tứ cực của hãng Acquity Waters (Micromass UK Limited TQD Q331225). Cân phân tích Shimadzu với độ chính xác 0.0001g. Bộ lọc rút chân không của hãng Agilent. Cột Acquity UPLC BEH ShieldRP18 (2.1 $\times$ 100mm, 1.7 μ m).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Tối ưu hóa các thông số kỹ thuật của hệ thống LC-MS/MS



Dung dịch chuẩn đơn nồng độ 1mg.l^{-1} : Hút $20\mu\text{l}$ từng chuẩn đơn gồm 2,4-D, MCPA, MCP, 2,4-DP, 2,4-DB, 2,4,5-T nồng độ 50mg.l^{-1} vào 6 lọ (vial), thêm $880\mu\text{l}$ $\text{MeOH:H}_2\text{O}$ (1:1;v/v) vào 6 lọ.

Khảo sát các thông số kỹ thuật của hệ thống LC-MS/MS bằng cách tiêm trực tiếp từng dung dịch chuẩn đơn có nồng độ 1mg.l^{-1} vào đầu dò khối phổ với tốc độ phun $20\mu\text{l.phút}^{-1}$, chế độ ion âm (ESI-) với chế độ ghi phổ MRM.

2.2.2 Cơ chế phân mảnh

Các hợp chất họ CPA công thức cấu tạo giống nhau nên đều có chung cơ chế phân mảnh. Ví dụ, 2,4-D có khối lượng phân tử 221.04g.mol^{-1} , khi được ion hóa với chế độ phun ESI (-) tạo ra ion âm tương ứng với dạng $[\text{M-H}]^-$ với chế độ ghi phổ full-scan sẽ thu được mảnh ion mẹ $m/z = 220.97$, phân mảnh $m/z = 162.96$ được tạo ra do mất nhóm $[\text{-CH}_2\text{CO}_2]^-$, phân mảnh $m/z = 127.48$ được tạo thành do tiếp tục mất nhóm -Cl^- với chế độ ghi phổ MRM.

2.2.3 Thành phần pha động

Yếu tố pH vừa ảnh hưởng tới quá trình ion hóa vừa ảnh hưởng đến cường độ tín hiệu chất phân tích. Tiến hành khảo sát 2 giá trị pH ở 3 chương trình gradient:

- pH = 2.70 tương ứng với 0.1% FA ứng với chương trình gradient 1 trong Bảng 1[5].

- pH = 3.30 tương ứng với 0.01% FA với chương trình gradient 3 trong Bảng 1.

Chuẩn hỗn hợp $10\mu\text{g.l}^{-1}$: Hút $10\mu\text{l}$ từng chuẩn đơn bao gồm 2,4-D, MCPA, MCP, 2,4-DP, 2,4-DB, 2,4,5-T cùng nồng độ 1mg.l^{-1} vào 1 lọ, thêm $880\mu\text{l}$ $\text{MeOH:H}_2\text{O}$ (1:1;v/v) vào lọ.

- 0.1% FA: Hút $500\mu\text{l}$ FA (99%) vào 500ml nước.

- 0.01% FA: Hút $50\mu\text{l}$ FA (99%) vào 500ml nước.

Tiến hành khảo sát lần lượt 3 chương trình gradient ở Bảng 1 cùng các điều kiện sắc ký dùng dung dịch chuẩn hỗn hợp nồng độ $10\mu\text{g.l}^{-1}$, thể tích tiêm $10\mu\text{l}$, cột Acquity UPLC BEH RP18, $1.7\mu\text{m}$, $2.1 \times 100\text{mm}$, nhiệt độ cột 40°C , tốc độ dòng 0.3ml.phút^{-1} .

Bảng 1 Khảo sát 3 chương trình gradient

STT	Thời gian (phút)	Tỉ lệ (%) thành phần pha động	
		0.1% FA	ACN
1	0.0	60	40
	4.5	60	40
	5.0	10	90
	7.0	10	90
	7.5	60	40
	12.0	60	40
2	0.0	70	30
	4.5	70	30
	5.0	10	90
	7.0	10	90
	7.5	70	30
	12.0	70	30

3	0.0	70	30
	4.5	70	30
	5.0	10	90
	7.0	10	90
	7.5	70	30
	12.0	70	30

2.2.4 Khảo sát dung môi pha chuẩn

Quy trình xử lý mẫu nước sông bằng kỹ thuật chiết pha rắn, giai đoạn rửa giải bằng 100% MeOH nên tiến hành khảo sát 3 hệ dung môi: 0.01% FA:ACN (7:3;v/v), MeOH:H₂O (3:7;v/v); MeOH:H₂O (1:1;v/v).

Dung dịch chuẩn nồng độ $10\mu\text{g.l}^{-1}$: Hút $10\mu\text{l}$ từng chuẩn gồm 2,4-D, MCPA, MCP, 2,4-DP, 2,4-DB, 2,4,5-T cùng nồng độ 1mg.l^{-1} vào 1 lọ, thêm $880\mu\text{l}$ 0.01% FA:ACN (7:3;v/v) vào lọ.

Dung dịch chuẩn nồng độ $10\mu\text{g.l}^{-1}$: Hút $10\mu\text{l}$ từng chuẩn gồm 2,4-D, MCPA, MCP, 2,4-DP, 2,4-DB, 2,4,5-T cùng nồng độ 1mg.l^{-1} vào 1 lọ, thêm $880\mu\text{l}$ MeOH:H₂O (3:7;v/v) vào lọ.

Dung dịch chuẩn nồng độ $10\mu\text{g.l}^{-1}$: Hút $10\mu\text{l}$ từng chuẩn gồm 2,4-D, MCPA, MCP, 2,4-DP, 2,4-DB, 2,4,5-T cùng nồng độ 1mg.l^{-1} vào 1 lọ, thêm $880\mu\text{l}$ MeOH:H₂O (1:1;v/v) vào lọ.

Tiêm lần lượt các dung dịch chuẩn pha trong các hệ dung môi trên vào hệ thống máy UPLC-MS/MS.

2.2.5 Khoảng tuyến tính

Mục đích khảo sát là tìm khoảng làm việc tuyến tính của chất phân tích có độ tin cậy đối với quy trình phân tích.

Pha dung dịch chuẩn hỗn hợp gồm 2,4-D, MCPA, MCP, 2,4-DP, 2,4,5-T nồng độ từ 2 – $50\mu\text{g.l}^{-1}$, riêng 2,4-DB nồng độ từ 5 – $50\mu\text{g.l}^{-1}$ (các điểm chuẩn được pha trong dung môi MeOH:H₂O (1:1;v/v)).

2.2.6 Giới hạn phát hiện và định lượng của thiết bị

Đánh giá độ nhạy của thiết bị dựa vào giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng, thiết bị có MDL và MQL càng thấp thì càng nhạy[6].

Dung dịch chuẩn nồng độ $0.2\mu\text{g.l}^{-1}$: Hút $10\mu\text{l}$ từng chuẩn gồm 2,4-D, 2,4,5-T cùng nồng độ $20\mu\text{g.l}^{-1}$ vào 1 lọ, thêm $990\mu\text{l}$ MeOH:H₂O (1:1;v/v) vào lọ.

Dung dịch chuẩn nồng độ $0.4\mu\text{g.l}^{-1}$: Hút $10\mu\text{l}$ từng chuẩn gồm MCPA, MCP, 2,4-DP, 2,4-DB cùng nồng độ $40\mu\text{g.l}^{-1}$ vào 1 lọ, thêm $990\mu\text{l}$ MeOH:H₂O (1:1;v/v) vào lọ.

Tiêm liên tiếp 11 lần lần lượt các dung dịch chuẩn nồng độ $0.2\mu\text{g.l}^{-1}$ và $0.4\mu\text{g.l}^{-1}$ vào hệ thống UPLC-MS/MS. Giới hạn phát hiện và định lượng của thiết bị được tính toán như sau:

$$\text{Giá trị trung bình: } \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{11}$$

$$\text{Độ lệch chuẩn: } SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{10}}$$

$$\text{Giới hạn phát hiện (LOD): } LOD = 3 \times SD$$

Giới hạn định lượng (LOQ): $LOQ = 10 \times SD$

Ghi chú: $\bar{X}$: Giá trị trung bình

SD (Standard Deviation): Độ lệch chuẩn

x_i : Nồng độ của chất phân tích

n: Số lần thí nghiệm

LOD (Limit of detection): Giới hạn phát hiện

LOQ (Limit of quantification): Giới hạn định lượng

3 Kết quả nghiên cứu

3.1 Tối ưu hóa các thông số kỹ thuật của hệ thống LC-MS/MS
 Chế độ ghi phổ MRM sử dụng trong quá trình định lượng các hợp chất Phenoxy acid. Các hợp chất CPA được ion hóa theo kiểu ESI âm với các thông số hỗ trợ cho quá trình ion hóa đã được tối ưu gồm: tốc độ dòng khí hóa hơi dung môi 800L.h^{-1} , nhiệt độ nguồn 150°C , nhiệt độ dòng khí hóa hơi dung môi 350°C , tốc độ dòng khí bắn phá 0.45ml.min^{-1} , thế ion hóa -3500V . Hai thông số của thiết bị khối phổ đặc trưng cho sự phân mảnh là thế cone và năng lượng va chạm, đồng thời xác định được mảnh ion con m/z có cường độ lớn nhất dùng để định lượng, mảnh ion con thứ 2 có cường độ thấp hơn dùng để định tính [7,8,9]. Kết quả thực nghiệm trình bày ở Bảng 2.

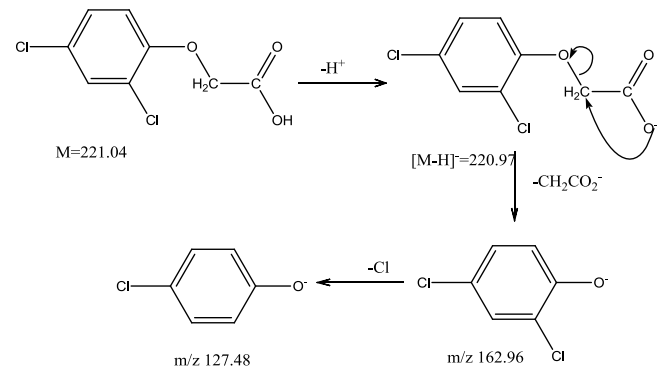
Bảng 2 Kiểu ion hóa, thế Cone, năng lượng va chạm của các hợp chất họ CPA

Tên chất	Khối lượng phân tử	Ion mẹ	Ion con	Thế cone (V)	Năng lượng va chạm (V)		
2.4-D	221.04	220.97	162.96 (Q)	18	11		
			127.48 (C)	18	32		
MCPA	200.62	198.93	141.07 (Q)	26	14		
			160.95 (C)	26	18		
MCPD	214.65	213.04	141.06 (Q)	22	22		
			105.06 (C)	22	32		
2.4-DP	235.1	234.96	163.29 (Q)	14	20		
			125.07 (C)	18	32		
2.4-DB	249.09	249.03	163.01 (Q)	20	14		
			127.41 (C)	20	23		
2.4.5-T	255.48	254.91	196.96 (Q)	20	14		
			161.47 (C)	20	16		

* Ghi chú: (Q): định lượng, (C): định tính

3.2 Cơ chế phân mảnh

Các hợp chất họ CPA có công thức cấu tạo giống nhau nên đều có chung cơ chế phân mảnh. Cơ chế phân mảnh 2.4-D trình bày ở Hình 1.



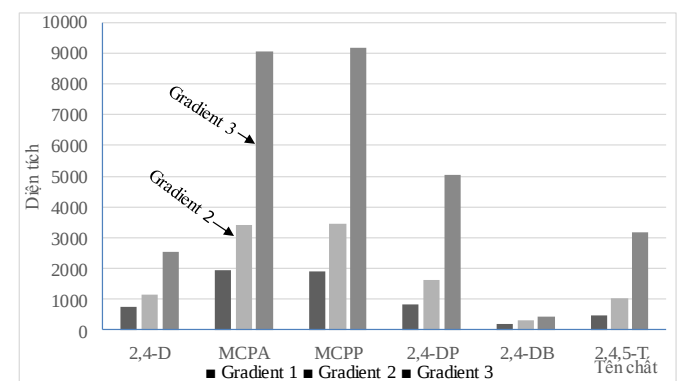
Hình 1 Cơ chế phân mảnh 2.4-D

3.3 Thành phần pha động

Sau khi tiến hành khảo sát theo 3 chương trình gradient, thu được kết quả bao gồm diện tích và độ rộng mũi sắc ký trình bày ở Bảng 3.

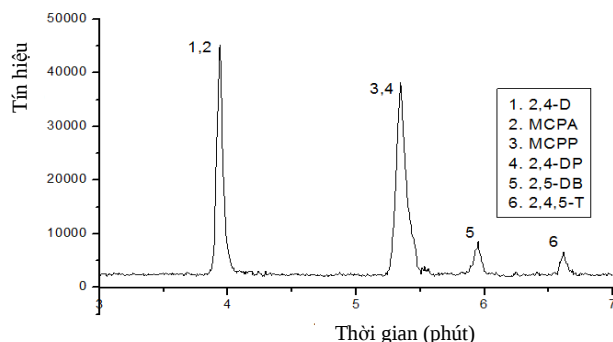
Bảng 3 Kết quả khảo sát diện tích và độ rộng mũi sắc ký chương trình gradient

Tên chất	Gradient 1		Gradient 2		Gradient 3	
	Diện tích	Độ rộng	Diện tích	Độ rộng	Diện tích	Độ rộng
2.4-D	770	0.30	1154	0.20	2556	0.15
MCPA	1942	0.30	3419	0.10	9033	0.10
MCPD	1905	0.30	3444	0.20	9189	0.15
2.4-DP	818	0.20	1642	0.10	5040	0.10
2.4-DB	200	0.30	331	0.15	427	0.10
2.4.5-T	490	0.30	1035	0.15	3188	0.15



Hình 2 So sánh diện tích mũi sắc ký ở 3 chương trình gradient

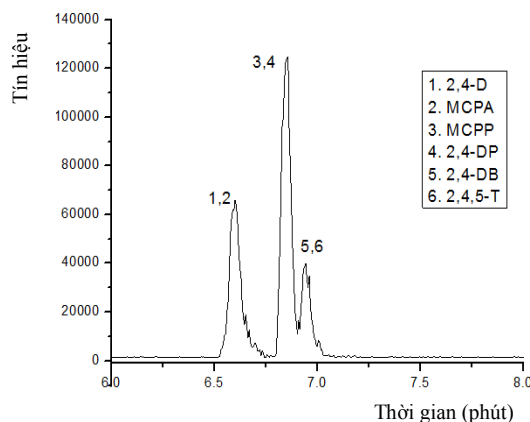
Khảo sát chương trình gradient 1, sắc ký đồ thu được được thể hiện ở Hình 3



Hình 3 Sắc kí đồ thu được chương trình gradient 1

Chương trình gradient 1, phân tách 2 chất 2,4-DB và 2,4,5-T. Các chất có hệ số kéo đuôi cao ≥ 1.50 (2,4-D (1.5), 2,4-DP (1.5), 2,4,5-T (2.3)). Có sự chập mũi sắc kí giữa 2,4-D và MCPA, giữa MCPP và 2,4-DP. Do sử dụng đầu dò khối phổ, sắc kí đồ được hiển thị dựa trên các cặp m/z đặc trưng từng chất. Vì vậy, sự chập nhau mũi sắc kí không ảnh hưởng đến kết quả phân tích. Nhằm mục đích tăng sự tập trung chất phân tích trước khi vào đầu dò khối phổ, nên hạ tỉ lệ pha hữu cơ ACN chương trình gradient 1 giảm từ 40% xuống 30% chương trình gradient 2 để tăng khả năng lưu giữ chất phân tích trên cột, sau đó tăng nhanh tỉ lệ dung môi hữu cơ ACN lên 90%. Tiến hành khảo sát chương trình gradient 2 ở Bảng 1.

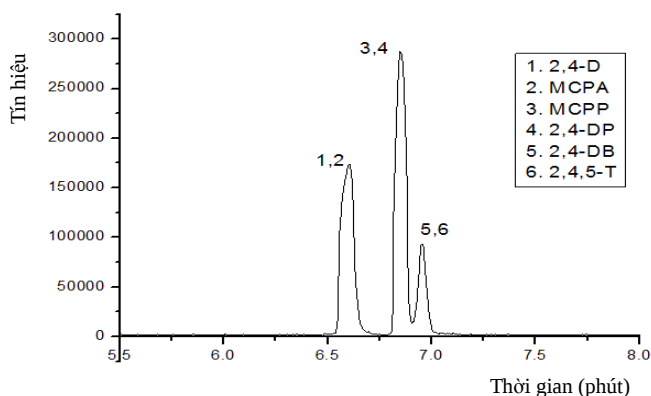
Sắc kí đồ thu được:



Hình 4 Sắc kí đồ thu được chương trình gradient 2

Chương trình gradient 2, tín hiệu mũi sắc kí đã cải thiện đáng kể và giảm hiện tượng kéo đuôi, hệ số kéo đuôi nằm trong khoảng 0.93 – 1.31, đồng thời so sánh giữa chương trình gradient 1 và 2 cho thấy, diện tích mũi sắc kí giữa chương trình gradient 1 khoảng 200 – 1942 và chương trình gradient 2 khoảng 331 – 3442 được thể hiện kết quả ở Bảng 3. Nhằm mục đích giảm sự cung cấp ion $[H]^+$ gây cạnh tranh ion trong quá trình ion hóa nên giảm từ 0.1% FA tương ứng pH = 2.70 đến 0.01% FA tương ứng pH = 3.30 được thể hiện ở chương trình gradient 3.

Sắc kí đồ thu được như sau:



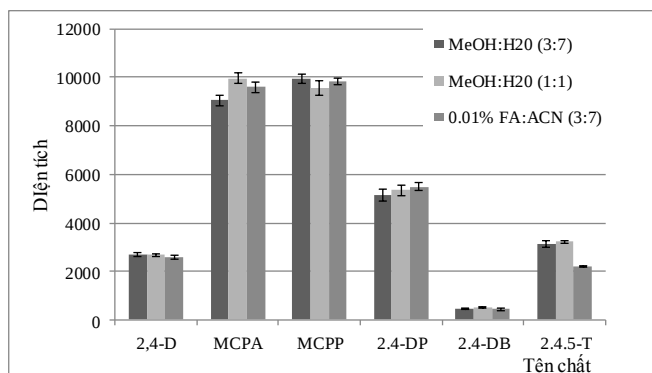
Hình 5 Sắc kí đồ thu được của chương trình gradient 3

$[H]^+$ càng cao thì khả năng cung cấp ion $[H]^+$ càng mạnh, các hợp chất 2,4-D sử dụng kĩ thuật ion hóa điện tử ESI với chế độ bắn phá ion âm nên sẽ gây cạnh tranh ion trong quá trình ion hóa. Khi nồng độ FA giảm từ 0.1% đến 0.01% FA thì khả năng cung cấp ion $[H]^+$ giảm, nên hiện tượng cạnh tranh ion giảm. So sánh giữa hai nồng độ ở chương trình gradient 2 và gradient 3, với 0.01% FA cường độ mũi sắc kí tăng so với 0.1% FA gần gấp 3 lần, trừ 2,4-DB không tăng, do 2,4-DB có hằng số $pK_a = 4.8$ nên khả năng ion hóa kém nhạy hơn so với các chất khác.

So sánh giữa các chương trình, chương trình gradient 3 đáp ứng mũi sắc kí cân xứng và không bị chệch và cường độ tín hiệu lớn nhất.

3.5 Khảo sát dung môi pha chuẩn

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn nồng độ $10\mu g.l^{-1}$ pha trong các dung môi 0.01% FA:ACN (7:3;v/v), MeOH:H₂O (3:7;v/v), MeOH:H₂O (1:1;v/v) vào hệ thống LC-MS/MS với điều kiện đã tối ưu và quan sát hình dạng, ghi nhận diện tích của từng mũi sắc kí để so sánh. Kết quả thể hiện Hình 6.



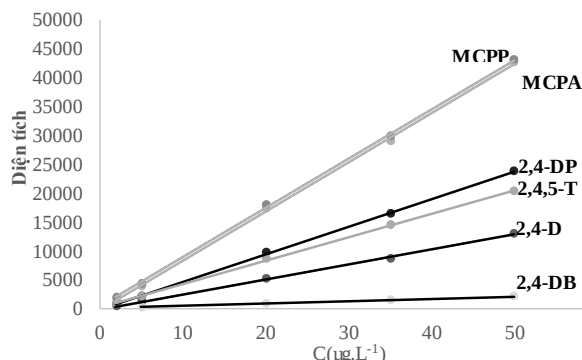
Hình 6 So sánh sự khác nhau giữa 3 hệ dung môi pha chuẩn

Nhìn vào biểu đồ Hình 6, diện tích mũi sắc kí của 3 hệ dung môi đều có sự tương đồng. Để phù hợp cho qui trình xử lí

mẫu và dung môi pha chuẩn có sự đồng nhất nên chọn hệ dung môi MeOH:H₂O (1:1; v/v).

3.6 Khoảng tuyến tính

Tiêm các dung dịch chuẩn hỗn hợp gồm 2,4-D, MCPA, MCPP, 2,4-DP, 2,4,5-T nồng độ từ 2 – 50 µg.l⁻¹, riêng 2,4-DB có khoảng nồng độ từ 5 – 50 µg.l⁻¹ vào hệ thống LC-MS/MS. Khảo sát sự tương quan giữa y (diện tích đỉnh) và x (nồng độ).



Hình 7 Đường hồi qui tuyến tính của 6 hợp chất CPA

Bảng 4 Bảng giá trị thời gian lưu và phương trình hồi qui của 6 hợp chất CPA

Tên chất	Thời gian lưu (phút)	Phương trình hồi qui	R ²
2,4-D	6.58	Y = 258.51x + 33.259	0.9991
MCPA	6.60	Y = 853.31x + 280.91	0.9997
MCPP	6.84	Y = 854.15x + 458.57	0.9997
2,4-DP	6.85	Y = 475.85x + 198.22	0.9996
2,4-DB	6.94	Y = 41.246x + 2.5307	0.9991
2,4,5-T	7.01	Y = 405.16x + 193.14	1.000

Kết quả cho thấy hệ số tương quan R² = 0.9999. Yêu cầu R² ≥ 0,99.

3.7 Giới hạn phát hiện và định lượng của thiết bị

Tiêm liên tiếp 11 lần các chuẩn hỗn hợp gồm 2,4-D, 2,4,5-T nồng độ 0.2 µg.l⁻¹, các chuẩn gồm MCPA, MCPP, 2,4-DP, 2,4-DB nồng độ 0.4 µg.l⁻¹ vào hệ thống LC-MS/MS. Giới hạn phát hiện và định lượng của 6 chất được thể hiện ở Bảng 5:

Bảng 5 Kết quả LOD, LOQ thiết bị

STT	Tên chất	LOD ^{thiết bị} (x10 ⁻²) (µg.l ⁻¹)	LOQ ^{thiết bị} (x10 ⁻²) (µg.l ⁻¹)
1	2,4-D	4.6	15.0
2	MCPA	2.2	7.4
3	MCPP	2.6	8.7
4	2,4-DP	5.6	19.0
5	2,4-DB	16.0	52.0
6	2,4,5-T	3.5	12.0

4 Kết luận và đề nghị

Nghiên cứu này đã tối ưu các điều kiện sắc ký LC-MS/MS để xác định được mảnh ion m/z dùng để định tính và định lượng các chất của hợp chất họ CPA và chương trình gradient sử dụng cột Acquity UPLC BEH RP18, 1.7 µm, 2.1×100mm, kỹ thuật ESI (-) kết hợp chế độ ghi phổ MRM với giá trị LOQ thiết bị từ 7.4 đến 52 (x10⁻²) µg.l⁻¹. Xin kiến nghị tiến hành khảo sát qui trình xử lý mẫu để áp dụng phân tích các hợp chất CPA trong nền mẫu nước sông, đồng thời mở rộng khảo sát trong bùn để đánh giá khả năng lưu giữ và luân chuyển của thuốc diệt cỏ trong tự nhiên. Từ đó có cái nhìn tổng quát về tình trạng ô nhiễm thuốc diệt cỏ.

Lời cảm ơn

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn ĐH Nguyễn Tất Thành đã hỗ trợ kinh phí thực hiện thông qua đề tài nghiên cứu cấp cơ sở với mã số đề tài: 2018.01.77/HĐ-KHCN

Tài liệu tham khảo

1. Tadeo, José L (2008), *Analysis of pesticides in food and environmental samples*, USA, pp. 11-20.
2. Nguyễn Thị Kim Cúc (2004), *Nghiên cứu công nghệ sản xuất chế phẩm vi sinh ứng dụng trong xử lý tồn dư thuốc bảo vệ thực vật*, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.
3. Kuang, Hua Wang, Libing Xu, Chuanlai (2011), *Herbicides, Theory and Applications*, Croatia In Tech. Europe, *Overview of analytical techniques for herbicides in food*, pp. 239-280.
4. Tổng cục Môi trường, Vụ Khoa học và Công nghệ (2011), *Qui chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng nước mặt bảo vệ đời sống thủy sinh*, Hà Nội.
5. Majzik, Solymosné E, Tóth, Benke F, Kiss L (2006), *Chromatographia, SPE-LC-MS-MS determination of phenoxy acid herbicides in surface and ground water*, 63 (13), pp. 105-109.
6. Viện Kiểm nghiệm An toàn Vệ sinh Thực phẩm (2010), *Thẩm định phương pháp trong phân tích hóa học và vi sinh vật*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, pp. 33-36.
7. Han, Wenjun, Hicks, Ben, Wild, Elaine (2014), *Chemical division of Athens, ESI LC-MS/MS-14337*, pp. 1-11.
8. McManus, Sarah-Louise, Moloney, Mary, Richards, Karl, Coxon, Catherine, Danaher, Martin (2014), *Molecules, Determination and occurrence of phenoxyacetic acid herbicides and their transformation products in groundwater using ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry*, 19 (12), pp. 20627-20649.
9. Sklivagou, Papadopoulou E, Bakoulis K (2010), *Desalination and Water Treatment, Determination of acid herbicides in water by LC/MS/MS*, 13 (1-3), pp. 320-327.

Optimal analytical conditions of chlorinated phenoxy acid herbicides in groundwater using ultra high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS)

Le Hai Duong^{*}, Nguyen Thi Thu Thao, Mai Thanh Nhan

Faculty of pharmacy, Nguyen Tat Thanh university

^{*}lhduong@ntt.edu.vn

Abstract The study presents the method of mass spectrometry with UPLC-MS/MS for analysis of residue of herbicides of the CPA compounds in river water samples, including 2,4-D, MCPA, MCPP, 2,4-DP, 2,4-DB, 2,4,5-T. We combined LC-MS/MS and ESI (-) methods with MRM recording mode to determine, using UPLC BEH RP18 Acquity column, 1.7 μ m, 2.1 $\times$ 100mm. We optimized the parameters of the mass spectra to determine the m/z ion fraction through a gradient run program with a 10 μ l injection volume, a column temperature of 40°C, a flow rate of 0.3ml.min⁻¹. The active phase consists of 0.01% formic acid and acetonitrile. Therefore, the above optimized chromatographic conditions are appropriate to quantify the CPA compounds.

Keyword Chlorinated phenoxy acid (CPA), UPLC-MS/MS, residue of herbicides.