

PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG PACLOBUTRAZOL TRONG ĐẤT TRỒNG XOÀI TẠI TỈNH ĐỒNG THÁP BẰNG SẮC KÝ LỒNG SIÊU HIỆU NĂNG GHEP KHỐI PHỔ (UPLC-MS/MS)

Nguyễn Thị Hồng Chuyên¹, Phan Mỹ Hạnh, Lê Thị Thùy Nhi²

¹ Bộ môn Công nghệ Sinh học - Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh

² Phòng Công nghệ Vi sinh - Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Paclobutrazol (PBZ) là chất tổng hợp hóa học, được sử dụng như hormone điều hòa sinh trưởng ở thực vật, giúp cây ăn quả ra hoa mùa nghịch. Hiện nay, nền nông nghiệp nước ta ở mức độ thâm canh cao đi kèm với đó là việc sử dụng paclobutrazol ở nồng độ cao quá mức. Sau một thời gian dài sử dụng, tình trạng dư lượng PBZ tại khu vực đồng bằng sông Cửu Long đang ở mức báo động. Bằng phương pháp sắc ký lồng ghép nối khối phổ (UPLC-MS/MS), chúng tôi đã xác định được dư lượng paclobutrazol trong đất trồng xoài tại tỉnh Đồng Tháp ở các điều kiện canh tác khác nhau. Cấu trúc của hợp chất này được xác định bằng các phương pháp khối phổ MRM với mảnh sơ cấp m/z 294.09 và hai mảnh con thứ cấp có m/z lần lượt là 125,05 và 70,09, nguồn ion hóa ESI+, pha tĩnh sử dụng cột UPLC BEH C18, pha động là dung môi acetonitrile bổ sung 0,1% acid formic. Sử dụng paclobutrazol tinh khiết (Accurstandard, 1000 $\mu\text{g/mL}$) làm chất chuẩn cho phương pháp. Kết quả phân tích UPLC-MS/MS cho thấy hàm lượng paclobutrazol cao nhất là $87,665 \pm 0,171$ ppm tại vườn trồng xoài 20 năm, thấp nhất ở vườn phun PBZ vụ đầu tiên ($0,528 \pm 0,003$ ppm). Phát triển phương pháp định lượng PBZ làm tiền giúp tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải PBZ bằng con đường phân hủy sinh học, nhằm phá vỡ các liên kết hóa học dựa vào con đường dị hóa của chúng.

Từ khóa: paclobutrazol, phân giải sinh học, xoài, UPLC-MS/MS.

MỞ ĐẦU

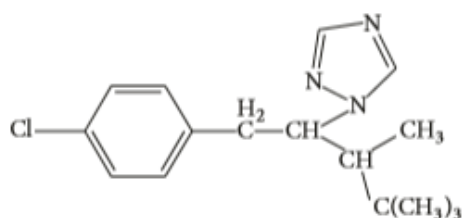
Paclobutrazol (2RS, 3RS)-1-(4-chlorophenyl)-4, 4-dimethyl-2-(1H-1, 2, 4-triazol-1-yl) pentan-3-ol (IUPAC), là hợp chất hóa học được sử dụng như hormone điều hòa sinh trưởng tổng hợp ở thực vật, thuộc nhóm kháng nấm chứa vòng triazole (Vaz *et al.*, 2015). PBZ có chức năng ức chế kéo dài tế bào và kéo dài lông, làm chậm tăng trưởng cây trồng bằng cách ức chế sinh tổng hợp gibberelin. Vì nhu cầu tiêu thụ quanh năm các nhóm cây ăn quả như xoài, nhãn, sầu riêng,... hiện nay, paclobutrazol được sử dụng rộng rãi đến quá mức tại các nhà vườn, làm cho đất trồng bị tồn dư một lượng paclobutrazol khá lớn. Bên cạnh đó, việc liên tục sử dụng paclobutrazol trong thời gian dài dẫn đến tình trạng cây chậm phát triển, trở nên còi cọc và sức chống chịu kém. Các hộ nông dân canh tác xoài ở huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang cho thấy, lượng PBZ lưu tồn ở tầng đất từ 0 - 20 cm dao động trong khoảng 0,88 - 58,66 mg/kg đất khô. Ở tầng đất 20 - 40 cm, hàm lượng PBZ lưu tồn trong khoảng 1,42 - 14,93 mg/kg đất khô (Đỗ Thị Xuân *et al.*, 2018).

Do thiếu các nhóm chức phân cực nên PBZ hầu như rất khó tan trong nước nhưng dễ liên kết với các vị trí kỵ nước trong dung môi hữu cơ. Vòng chlorobenzene của paclobutrazol có thể bị dị hóa, nhưng vòng 1,2,4 triazole có khả năng chống lại sự phân giải của vi sinh vật (Chen *et al.*, 2010). Mặc khác việc phá hủy PBZ bằng phương pháp phi sinh học diễn ra trong đất là rất khó bởi độ bay hơi của PBZ thấp (1 μPa) và thường lưu tồn trong đất rất lâu (Paclobutrazol, 1993). Hàm lượng sử dụng PBZ cao trong năm trước ở vườn cây ăn quả dẫn đến dư lượng cao trong đất vào các năm sau bởi nó vẫn hoạt động trong đất ở một thời gian dài và thời gian bán hủy của nó cũng thay đổi theo loại đất và điều kiện khí hậu địa phương (Sharma, Awasthi, 2005). Thời gian bán hủy của paclobutrazol trong đất thay đổi từ dưới 84 đến lớn hơn 140 ngày trong điều kiện hiếu khí, tùy thuộc vào lượng vật chất hữu cơ trong đất. Ánh sáng không ảnh hưởng đến thời gian bán hủy của paclobutrazol trong các loại dung dịch đệm. PBZ không bị thủy phân trong điều kiện axit, bazơ hoặc trung tính. Chu trình bán rã của PBZ trong nước là 4,5 năm ở 25°C và 2,5 năm ở 60°C được xác định bằng phương pháp đánh dấu phóng xạ [¹⁴C]-Paclobutrazol (Jackson *et al.*, 1996).

Phương pháp định lượng bằng hệ thống sắc ký lồng siêu hiệu năng (UPLC-MS/MS) có tính ưu việt hơn phương pháp sắc ký lồng hiệu năng cao (HPLC) - đã được sử dụng rất phổ biến. Hệ thống UPLC-MS/MS hoạt động ở áp suất cao (10000 - 15000 psi), kích thước hạt trong cột chỉ khoảng 2 micromet cho kết quả khả năng phân tách peak tốt hơn, độ nhạy cao, thời gian lưu rất ngắn chỉ trong 2 - 10 phút, giảm chi phí sử dụng dung môi, so với sử dụng hệ thống HPLC ở các nghiên cứu trước.

Hiện cần bổ sung thêm những thông tin về dư lượng Paclobutrazol trong đất của các vườn xoài ở các tỉnh khác nhau tại Đồng bằng sông Cửu Long, cụ thể tại tỉnh Đồng Tháp. Vì vậy, phát triển phương pháp định lượng nhanh, độ chính xác cao có thể ứng dụng để tuyển chọn, đánh giá mức độ phân giải PBZ của các chủng vi sinh

vật đặc hữu có trong đất trồng. Điều này hướng đến việc làm giảm hoặc biến đổi PBZ trong đất thành chất chuyển hóa vô hại, góp phần khôi phục đất, hướng đến phát triển nông nghiệp bền vững tại địa phương.



Hình 1. Cấu tạo hóa học của Paclobutrazol (Liu *et al.*, 2015)

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Hóa chất và thiết bị

Dung môi dùng cho phân tích sắc kí: Acetonitrile (ACN – Merck), nước LC/MS (Merck), Acid formic (FA - Merck), MgSO₄ anhydrous (Merck). Dung dịch chất chuẩn paclobutrazol tinh khiết 1000 ppm (Accurstandard).

Hệ thống sắc ký lỏng UPLC-MS/MS Water Triple Quad, cột sắc ký ACQUITY UPLC BEH C18 1,7 µm; 21 x 100 mm, bể siêu âm, màng lọc 0,22 µm PTFE, các thiết bị khác trong nghiên cứu được sản xuất từ các hãng Carl Zeiss, Mettler toledo, Memmert, Thermo scientific.

Nguyên liệu

Đất được thu thập tại các vườn trồng xoài có thời gian sử dụng chế phẩm paclobutrazol thương mại khác nhau (từ 1 đến trên 20 năm) tại tỉnh Đồng Tháp. Mẫu đất được đào có độ sâu cách mặt từ 10 - 15 cm, gần vùng rễ tơ của cây xoài. Mẫu đất được mã hóa theo tên khu vực lấy mẫu, cụ thể Sa Đéc (SD), huyện Lấp Vò (HLV), huyện Cao Lãnh (HCL), thành phố Cao Lãnh (TPCL), Tháp Mười (TM). Mẫu đất đối chứng âm là vùng đất sinh thái tự nhiên, không sử dụng PBZ (UT).

Bảng 1. Thông tin các mẫu đất thu thập tại Đồng Tháp

Kí hiệu mẫu	Địa điểm thu mẫu	Tuổi vườn (năm)	Thời gian gần nhất sử dụng (tháng) *
SD	Sa Đéc, Đồng Tháp	5 năm	6
HLV	Tp. Cao Lãnh, Đồng Tháp	Trên 20 năm	12
HCL1	Tp. Cao Lãnh, Đồng Tháp	10 năm	8
HCL2	Huyện Cao Lãnh, Đồng Tháp	5 năm	6
TPCL1	Tp. Cao Lãnh, Đồng Tháp	Trên 20 năm	6
TPCL2	Tp. Cao Lãnh, Đồng Tháp	18 năm	5
TPCL3	Tp. Cao Lãnh, Đồng Tháp	5 năm	6
TPCL4	Tp. Cao Lãnh, Đồng Tháp	1 năm	3
TM	Tháp Mười, Đồng Tháp	8 năm	6
UT	U Minh Thượng, Kiên Giang	Không sử dụng	0

* Thời gian sử dụng Paclobutrazol gần nhất đến lúc thu nhập mẫu tại địa phương.

Phương pháp

Chiết mẫu

Cân chính xác 1,000 g đất sau khi đã nghiền nhỏ, thêm 9 mL dung môi ACN: 0,1%FA (v/v), vortex 1 phút, loại nước bằng MgSO₄ khan và giữ ở 4°C trong 30 phút, tiến hành chiết siêu âm trong 15 phút, ly tâm 7000 vòng/phút, thu dịch nổi (lặp lại 3 quá trình chiết siêu âm và ly tâm). Pha loãng dịch chiết bằng dung môi ACN: 0,1%FA (v/v) ly tâm thu dịch nổi và làm sạch mẫu qua màng lọc 0,2 µm PTFE và tiêm vào hệ thống UPLC-MS/MS.

Phương pháp định lượng PBZ bằng hệ thống sắc ký lỏng UPLC-MS/MS

Pha loãng dung dịch chất chuẩn paclobutrazol bằng ACN: 0,1%FA (v/v) đồng hóa dung dịch bằng bể siêu âm 15 phút, sau đó bảo quản ở 4°C.

Điều kiện phân mảnh, điều kiện của nguồn và khí được tự động tối ưu trên hệ thống MS. Dựa vào các tài liệu phân tích dư lượng thuốc trừ sâu, bằng hệ thống sắc ký lỏng ghép khối phổ UPLC-MS/MS, chúng tôi xây dựng chương trình ở điều kiện tối ưu như sau.

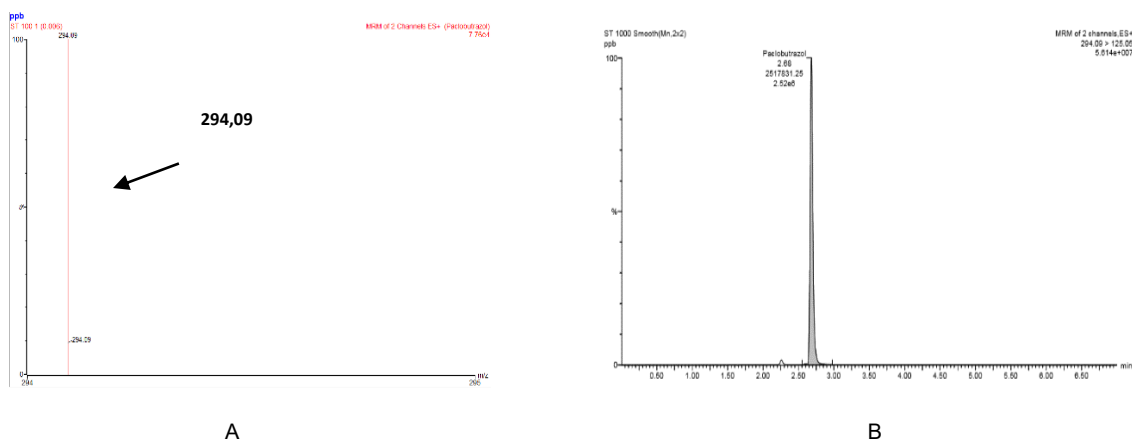
Bảng 2. Điều kiện, thông số cho quá trình phân tích bằng hệ thống UPLC-MS/MS

Điều kiện sắc ký				Điều kiện khối phổ
LC system: Water ACQUITY UPCL H – Class				Hệ thống khối phổ: Xevo TQ-S micro
Cột sắc ký: ACQUITY UPLC BEH C18 1,7 μ m, 2,1x100 mm				Nguồn ion hóa: ESI +
Nhiệt độ cột: 40°C				Nhiệt độ nguồn ion hóa: 150°C
Thể tích tiêm mẫu: 10 μ l				Desolvation temp: 500°C
Tốc độ dòng: 0,45 mL/min				Desolvation gas flow: 1000 L/hr
Pha động A: Nước : 0,1% FA				Chế độ MRM $[M]H^+$ và $[M]H^-$, có năng
Pha động B: ACN : 0,1% FA				lượng Cone (V) và Collision (V) như sau
Wash solvent: ACN : H ₂ O (50:50)				294.0900 > 70.0900 (30 20)
Purge solvent: ACN : H ₂ O (10:90)				294.0900 > 125.0500 (30 35)
Thời gian (phút)	%A	%B	Curve	Mảnh ion con m/z có cường độ lớn nhất dùng để định lượng, mảnh con thứ 2 có cường độ thấp hơn dùng để định tính.
0,00	98	2	0,00	
0,25	98	2	6,0	
1,00	1	99	6,0	
6,00	1	99	6,0	
6,10	98	2	6,0	
7,00	98	2	6,0	

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

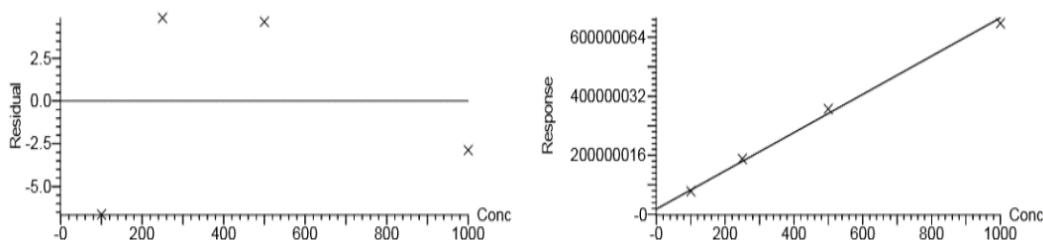
Khoảng tuyến tính và đường chuẩn

Tiến hành phân tích mẫu trắng và mẫu chuẩn paclobutrazol tinh khiết theo chương trình tối ưu trên (bảng 2), xác định thời gian lưu của peak paclobutrazol trong phương pháp khối phổ MRM với mảnh sơ cấp m/z 294.09 và hai mảnh con thứ cấp có m/z lần lượt là 125,05 và 70,09. Sử dụng phần mềm Masslynx của hệ thống sắc ký lỏng UPLC – MS/MS để phân tích, kết quả cho thấy trên sắc ký đồ của dung môi pha mẫu (mẫu trắng) không xuất hiện peak ở trong khoảng thời gian lưu của PBZ ($t_R = 2,72 \pm 0,26$ phút). Theo Witchard, 1997, sử dụng hệ thống HPLC để định lượng PBZ cho kết quả thời gian lưu $t_R = 9,5$ phút. Hay nhóm tác giả Liu và cộng sự, 2015, xây dựng phương pháp xác định dư lượng paclobutrazol trong khoai và đất trồng khoai bằng hệ thống UHPLC-MS/MS cho kết quả $t_R = 5,41$ phút với giá trị LOD VÀ LOQ lần lượt là 0,5 ppb và 5 ppb.



Hình 2. Phổ (hình 3A, m/z là 294,09) và sắc ký đồ của paclobutrazol 1000 ppb (hình 3B, thời gian lưu Rt là 2,68 phút)

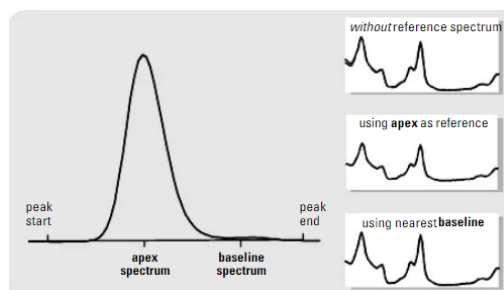
Compound name: Paclobutrazol
 Correlation coefficient: $r = 0.998391$, $r^2 = 0.996785$
 Calibration curve: $647437 \cdot x + 1.81954e+007$
 Response type: External Std, Height
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: $1/x$, Axis trans: None



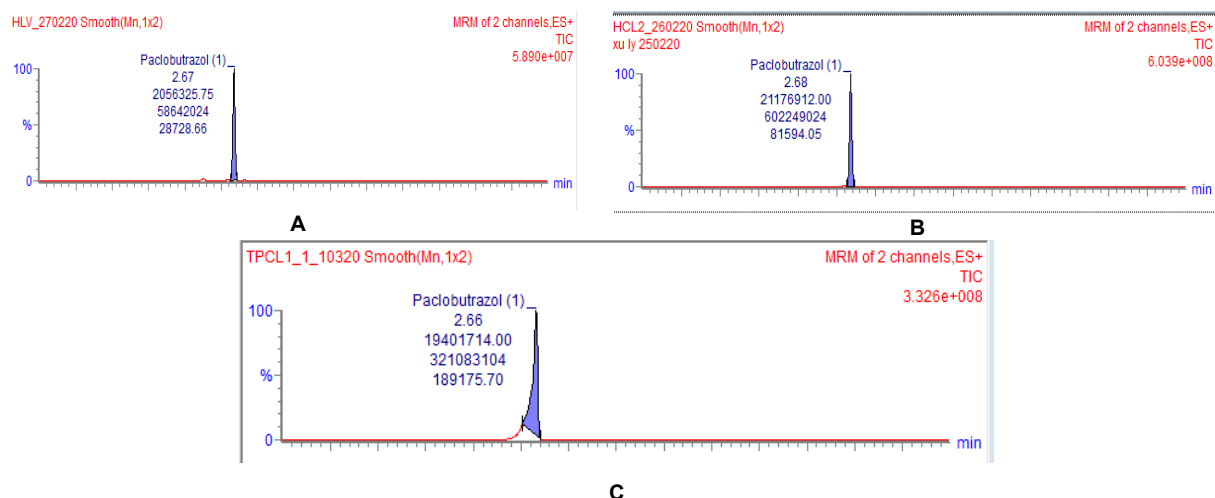
Hình 3. Đồ thị biểu diễn đường chuẩn của paclobutrazol

Xây dựng đường chuẩn paclobutrazol tinh khiết ở dãy nồng độ 100, 250, 500 và 1000 ppb (hình 2). Đường chuẩn paclobutrazol có hệ số tương quan tuyến tính $R^2 = 0.996$ và khoảng tuyến tính rộng từ 100 - 1000 ppb. Phương trình hồi quy tuyến tính: $y = 647437x + 1,81954e+0,07$. Độ thu hồi (%Recovery) đạt 93,4 - 104,9%, nằm trong khoảng chấp nhận theo AOAC (80 - 110%). Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp tại giá trị tín hiệu signal to noise (S/N) 3/1 theo giả thiết lần lượt là 0,01 ppb và 0,03 ppb.

Vì vậy, phương pháp sắc ký lỏng siêu hiệu năng ghép khối phổ UPLC - MS/MS được sử dụng trong nghiên cứu thích hợp cho phân tích định lượng nhanh với độ chính xác và đặc hiệu cao. Có thể so sánh tính ưu việt của hệ thống sắc ký lỏng UPLC - MS/MS với HPLC của các nghiên cứu trước đây ở thời gian lưu và lượng dung môi sử dụng trong quá trình phân tích mẫu.



Hình 4. Phổ đồ độ tinh sạch của peak (Stahl, M., 2003)



Hình 5. Phổ đồ peak TIC của các mẫu phân tích (hình 5A, 5B, 5C lần lượt của các mẫu HLV, HCL2, TPCL1)

Đánh giá phương pháp chiết mẫu, cho thấy khả năng phân tách peak tốt, độ tinh sạch của peak (peak purity) trong tất cả các mẫu đất, thể hiện điểm bắt đầu bên trái và điểm kết thúc bên phải đều nằm trên đường baseline

(peak starts or ends on the baseline), đối chiếu hình dạng peak chuẩn (hình 4) và các peak của mẫu đất định lượng (hình 5).

Định lượng PBZ trong đất

Hàm lượng paclobutrazol trong các mẫu đất thu thập được xác định với các điều kiện tối ưu cho hệ thống sắc ký lỏng UPLC - MS/MS và theo phương pháp xây dựng đường chuẩn. Áp dụng phương trình hồi quy tuyến tính (hình 3), hàm lượng paclobutrazol được tính toán trong phần mềm Masslynx của hệ thống sắc ký.

Bảng 3. Kết quả định lượng PBZ trong đất

Variable	CODE	N	Mean	SE Mean	StDev	Variance	CoefVar
hàm lượng PBZ (ppm)	HCL1	3	5.8250	0.0115	0.0200	0.0004	0.34
	HCL2	3	35.783	0.233	0.404	0.163	1.13
	HLV	3	3.2933	0.0246	0.0425	0.0018	1.29
	SD	3	39.70	1.20	2.08	4.32	5.24
	TM	3	5.057	0.196	0.339	0.115	6.71
	TPCL1	3	19.158	0.968	1.676	2.811	8.75
	TPCL2	3	87.665	0.0985	0.171	0.0291	0.19
	TPCL3	3	26.170	0.0427	0.0740	0.0055	0.28
	TPCL4	3	0.52833	0.00167	0.00289	0.00001	0.55
	UT	3	0.07667	0.00353	0.00611	0.00004	7.97

Kết quả phân tích định lượng Paclobutrazol (bảng 3) cho thấy, độ lệch chuẩn tương đối (RSD hay CoefVar) ở các nồng độ của mẫu từ 10 ppb - 100 ppb và 1 ppm - 100 ppm lần lượt nằm trong khoảng 15 - 21% và 5,3 - 11% (AOAC, 2016). Kết hợp với kết quả thông tin điều tra tại địa phương thu mẫu (bảng 1) cho thấy, liều lượng sử dụng thuốc kích thích sinh trưởng Paclobutrazol hằng năm, độ tuổi của cây và phương thức canh tác có ảnh hưởng đến tồn dư PBZ trong đất. Điều này thể hiện ở những cây xoài lâu năm đã có dấu hiệu ngừng sinh sản, không ra hoa tạo quả. Cụ thể, hàm lượng PBZ ở vườn xoài 20 năm tại Thành phố Cao Lãnh (TPCL2) là 87,6 ppm, vườn xoài có độ tuổi 5 năm ở Sa Đéc (SD) và huyện Cao Lãnh (HCL2) lần lượt là 39,7 và 35,8 ppm. Ngoài ra, ở vườn xoài sử dụng thuốc PBZ ở vụ đầu tiên (TPCL4) cũng đã phát hiện dư lượng trong đất là 0,5 ppm. Từ kết quả khảo sát các vườn xoài tại tỉnh Đồng Tháp và kết quả nghiên cứu của tác giả Đỗ Thị Xuân và đồng tác giả, 2018 tại huyện Châu Thành, tỉnh Hậu Giang, hàm lượng tồn dư chất kích thích sinh trưởng Paclobutrazol trong đất vẫn còn trong khoảng thời gian từ 7 - 8 tháng sử dụng. Điều này ảnh hưởng đến hoạt động của vi sinh vật trong đất, số lượng vi sinh vật trong đất của vườn xoài nơi thường xuyên bón gốc chế phẩm paclobutrazol đã được chứng minh là giảm tới 58% (Vaz *et al.*, 2015).

Theo nghiên cứu của Sharma và đồng tác giả (2005), sử dụng paclobutrazol để thúc đẩy ra hoa ở xoài với liều lượng khuyến cáo có thể không dẫn đến tồn dư trong trái xoài khi thu hoạch ở mức có thể gây nguy hiểm cho sức khỏe con người. Tuy nhiên, ở những vùng đất sử dụng paclobutrazol thường xuyên và quá mức có thể dẫn đến nguy cơ ô nhiễm môi trường do dư lượng của nó vẫn tồn tại rất lâu trong đất. Do vậy, cần phải nghiên cứu các chủng vi sinh vật tiềm năng có khả năng phân giải paclobutrazol trong đất kết hợp với phương pháp canh tác nhằm giảm sự tích tụ chất này tại vùng rễ, khôi phục sức sống cho cây trồng.

KẾT LUẬN

Phương pháp phân tích định lượng paclobutrazol bằng hệ thống sắc ký UPLC - MS/MS có độ nhạy cao, thời gian phân tích rất nhanh và chính xác. Hợp chất được phát hiện tại tR = 2,72 phút. Kết quả phân tích UPLC-MS/MS cho thấy hàm lượng paclobutrazol cao nhất là $87,665 \pm 0,171$ ppm tại vườn trồng xoài 20 năm, thấp nhất ở vườn phun PBZ vụ đầu tiên ($0,528 \pm 0,003$ ppm). Phát triển phương pháp định lượng PBZ làm tiền đề giúp tuyển chọn và đánh giá nhanh các chủng vi sinh vật có khả năng phân giải PBZ bằng con đường phân hủy sinh học, bằng cách phá vỡ các liên kết hóa học dựa vào con đường dị hóa của chúng.

Cần tiếp tục xác định dư lượng của paclobutrazol tại vùng đất lấy mẫu sau mốc thời gian 6, 12 tháng để xác định mức độ phân giải trong điều kiện canh tác cụ thể tại địa phương để đưa ra phương án xử lý đất trồng thích hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

AOAC Official Methods of Analysis (2016). Guidelines for Standard Method Performance Requirements Appendix F, p. 9

Chen J, Xu L, Giesy JP, Jin HJ (2010). Biodegradation of paclobutrazol by a microbial consortium isolated from industrially contaminated sediment. *Toxicol Environ Chem* 92(8): 1487-1494.

Đặng Phạm Thu Thảo *et al.* (2014). Phân lập và định danh các dòng vi khuẩn bản địa có khả năng phân hủy thuốc kích thích ra hoa Paclobutrazol từ đất vườn trồng cây ăn trái ở một số tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*: 80-86.

Đỗ Thị Xuân, Nguyễn Thị Loan, Trần Duy Khánh, Trần Kim Tính, Lương Thị Thu Hương (2018). Đánh giá hiện trạng sử dụng sự lưu tồn của Paclobutrazol trên đất trồng xoài cát Hòa Lộc (*Mangifera indica* L.) tại huyện Châu Thành A, tỉnh Hậu Giang. *Tạp chí của Hội Khoa học Đất Việt Nam*, trong Hội nghị Khoa học Đất - Sử dụng bền vững tài nguyên đất ở Đồng bằng sông Cửu Long: 152-157.

Jackson MJ, Line MA, Hasan O (1996). Microbial degradation of a recalcitrant plant growth retardant-paclobutrazol (PP333). *Soil Biol Biochem* 28(9): 1265-1267.

Liu H, Lin T, Mao J, Lu H, Yang D, Wang J, Li Q (2015). Paclobutrazol residue determination in potato and soil using low temperature partition extraction and ultrahigh performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Anal Method Chem* 2015.

Paclobutrazol (Bonzi) risk characterization document (1993). Medical Toxicology and Worker Health and Safety Branches. Department of Pesticide Regulation.

Sharma D, Awasthi MD (2005). Uptake of soil applied paclobutrazol in mango (*Mangifera indica* L.) and its persistence in fruit and soil. *Chemosphere* 60(2): 164-169.

Stahl M (2003). Peak purity analysis in HPLC and CE using diode-array technology. Waldbronn: Agilent Technologies.

Vaz F, Santos Filho E, Silva S, Araújo S, Arnaud T, Bandeira A, Gouveia E (2015). Biodegradation of paclobutrazol: a plant growth regulator used in irrigated mango orchard soil. Embrapa Semiárido-Capítulo em livro científico (ALICE).

Witchard M (1997). A simplified technique for detection of paclobutrazol in plant sap extracts, using HPLC. *J Plant Growth Regul* 16(4): 213-214.

PACLOBUTRAZOL RESIDUE DETERMINATION METHOD IN MANGO ORCHARDS SOIL IN DONG THAP PROVINCE USING ULTRA PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY TANDEM MASS SPECTROMETRY (UPLC-MS/MS)

Nguyen Thi Hong Chuyen¹, Phan My Hanh, Le Thi Thuy Nhi^{2*}

¹ Department of Biotechnology - Nong Lam University of Ho Chi Minh City

² Department of Microbial Biotechnology, Biotechnology Center of Ho Chi Minh City

SUMMARY

Paclobutrazol (PBZ) is a compound synthesized by chemical way, used as a plant growth regulator, producing fruits throughout the year. At present, our country's intensive farming is being modern practice. That has also led to the increased use of paclobutrazol at an excessive concentration. Actually, studies are showing that paclobutrazol remains active in the soil for a long time, so the status of PBZ residues in the Mekong Delta is at an alarming rate. By using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS), we determined the amount of paclobutrazol residue of mango orchard soils in Dong Thap province under different farming conditions. The structure paclobutrazol compound was determined by multiple reactions monitoring (MRM) mass spectrometry methods with positive electron ionization mode. The precursor ion was m/z 294.09, and production ions were m/z 125.05 and 70.09 for paclobutrazol. The stationary phase was the UPLC BEH C18 column, the mobile phase was acetonitrile solvent containing 0.1 percent formic acid. Using pure paclobutrazol (Accurstandard, 1000 ug/mL) for method. UPLC-MS/MS analysis confirmed that the sample peaks obtained corresponding to paclobutrazol residues present in soil. The highest paclobutrazol content was 87.665 ± 0.171 ppm in 20-year mango orchards soil, the lowest in the first season PBZ spraying (0.528 ± 0.003 ppm). Development of quantitative PBZ method, as a prerequisite for selection of microorganisms capable of degrading PBZ by biodegradable pathway to break down chemical bonds based on their catabolic pathway.

Keywords: Biodegradation, mango, paclobutrazol, UPLC-MS/MS.

* Author for correspondence: Tel +84-09 8488 8320; Email: hanheus@gmail.com