NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH DƯ LƯỢNG KHÁNG SINH OFLOXACIN TRONG NƯỚC THẢI BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO GHÉP KHỐI PHỔ

Phạm Công Minh*, Phạm Quốc Nghiệp, Trịnh Thị Ánh Nguyệt, Lê Anh Kiên

Tóm tắt: *Một phương pháp sắc ký lỏng nhạy và chọn lọc kết hợp phương pháp khối phổ đã được phát triển để xác định ofloxacin trong nước thải y tế trên dải nồng độ 0,1-80 µg/L. Nghiên cứu đã tiến hành tối ưu hóa điều kiện tách chiết lỏng-lỏng và chiết pha rắn, tiếp theo các thông số thẩm định độ chính xác phương pháp cũng được xác định thông qua các mẫu củng cố các chất chuẩn ở các nồng độ quan tâm. Nghiên cứu sử dụng hệ thống HPLC 1200 ghép nối đầu dò khối phổ 6130 của hãng Agilent (USA) với cột Zorbax SB-C18 (5 µm; 150 mm × 4,6 mm). Chương trình chạy với pha động gồm axetonitrile và nước có chứa 0,5% axit formic (50:50, v/v), với tốc độ dòng 0,5 mL/phút, thể tích tiêm mẫu 10 µL. Kết quả cho thấy phương pháp có độ đúng, độ chính xác từ 70,05% - 115,56%, giới hạn phát hiện 0,2 ppb và giới hạn định lượng từ 0,6 ppb. Thử nghiệm phân tích mẫu nước thải y tế từ bệnh viện sau xử lý cho thấy dư lượng kháng sinh ofloxacin phát hiện được trong với nồng độ từ 5,58 ± 0,31 ppb đến 19,95 ± 1,22 ppb. Quy trình xây dựng được có tính khả thi để xác định dư lượng của ofloxacin trong nước thải y tế.*

Từ khóa: Ofloxacin; LC-MS; Nước thải y tế; Dư lượng kháng sinh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các kháng sinh quinolon có phổ tác dụng rộng, hoạt lực mạnh, được sử dụng trong nhiều trường hợp, nên đây là những kháng sinh được quan tâm nghiên cứu nhiều với nền mẫu phong phú như: trong chế phẩm, dịch sinh học, các nguồn nước tự nhiên đến nước thải sinh hoạt, bệnh viện, công ty dược. Ofloxacin là một kháng sinh rất bền thuộc nhóm Fluoroquinolones thường được phát hiện trong các mẫu nước thải [1] và nước mặt [2]. Do đó quá trình tích tụ sinh học kháng sinh ofloxacin ngày càng báo động và lượng ofloxacin trong môi trường ngày càng tăng. Do đó, vấn đề loại bỏ ofloxacin trong nước thải trước khi được xả vào môi trường rất được quan tâm trong những năm gần đây.

Nghiên cứu của Dương Hồng Anh và cộng sự (2008) sử dụng HPLC với đầu dò huỳnh quang để xác định các kháng sinh Fluoroquinolone trong nước thải bệnh viện [3]. Ngoài ra, HPLC với đầu dò huỳnh quang còn được sử dụng để xác định 14 kháng sinh quinolones trong cá [4]. Ke He và Lee Blaney [5] xác định 7 kháng sinh Fluoroquinolone trong các mẫu môi trường và nước thải bằng phương pháp chiết pha rắn (SPE) và sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo với đầu dò huỳnh quang. Giới hạn định lượng của thiết bị là 20 - 100 pg của khối lượng tiêm. Ping-Fei Fang [6] sử dụng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao kết hợp khối phổ để xác định isoniazid, rifampicin và levofloxacin trong các mô chuột có nồng độ lần lượt là 0,04, 0,05 và 0,05 µg/mL và trong huyết tương chuột tương ứng là 5,5; 6,0 và 6,6 µg/mL. Hanwen Sun cùng cộng sự [7] phát triển phương pháp mới để xác định natri ceftriaxone, metronidazole và levofloxacin trong nước tiểu người tương ứng là 0,05; 0,01 và 0,25 mg/mL và độ thu hồi trung bình khoảng 97,7-100,7 %. Các nghiên cứu đã định tính và định lượng các chất tồn dư kháng sinh trong nước và các mẫu sinh vật. Tuy nhiên, các nghiên cứu thực hiện trên nhóm nhiều chất kháng sinh và chưa có thực nghiệm riêng lẻ đối với ofloxacin. Tại Việt Nam, các nghiên cứu đã phân tích xác định sự tồn dư của các kháng sinh nhóm Fluoroquinolone trong nước thải bệnh viện. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu xác định độc lập ofloxacin để đánh giá chính xác hiệu quả xử lý ofloxacin bằng công nghệ oxi hóa nâng cao.

Trong nghiên cứu này, với điều kiện thiết bị và yêu cầu đặt ra cần xác định lượng ofloxacin tồn dư trong nước thải sau xử lý bằng công nghệ truyền thống để nghiên cứu công nghệ xử lý

ofloxacin bằng oxi hóa nâng cao, phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao nhạy và chọn lọc kết hợp phương pháp khối phổ đã được xây dựng phù hợp để xác định ofloxacin trong nước thải y tế sau xử lý.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất và thiết bị

Chất chuẩn ofloxacin của viện kiểm nghiệm thuốc Trung ương cơ sở 2 - TPHCM, theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam, độ tinh khiết 99,81%. Công thức hóa học $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ (M= 361,368). Nội chuẩn: ciprofloxacin của Viện kiểm nghiệm thuốc Trung ương cơ sở 2 - TPHCM, theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam, độ tinh khiết 93,9%. Các hóa chất khác và dung môi đều thuộc loại tinh khiết phân tích gồm: acid formic loại tinh khiết phân tích >99% (Merk, Đức), methanol 99,9% (MeOH) loại tinh khiết HPLC (Merk, Đức), axetonitrile 99,9% (ACN) loại tinh khiết HPLC (Merk, Đức), nước khử ion. Pha động A là H_2O khử ion chứa 0,5% acid formic. Pha động B là ACN chứa 0,5% acid formic. Các pha động được chuẩn bị mới trước khi tiến hành phân tích.

Thiết bị: Hệ thống HPLC 1200 của hãng Agilent (USA) bao gồm bơm đơn bốn kênh, bộ tiêm mẫu tự động, lò cột, cột sắc ký Zorbax SB-C18 (150 mm × 4,6 mm x 5 µm). Hệ thống khối phổ MS 6130 của hãng Agilent (USA) với nguồn ion hóa phun điện tử ESI. Bộ chiết pha rắn (SPE) với cột Oasis HLB (water) kích cỡ hạt 50-65 µm được sử dụng.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu nước thải được chuẩn bị trong phòng thí nghiệm và mẫu nước thải tại các bệnh viện tại thành phố Hồ Chí Minh. Hàm lượng kháng sinh trong các mẫu rất thấp, vì vậy, cần phải tiến hành xử lý, làm giàu mẫu trước khi phân tích trên thiết bị HPLC/MS để có thể thu được hiệu suất thu hồi cao nhất, loại bỏ các tạp chất gây ảnh hưởng đến kết quả phân tích.

2.3. Quy trình xử lý mẫu

Mẫu nước thải được thu gom tại các bệnh viện và tiến hành xử lý chiết pha rắn theo quy trình như sau: Bước 1: Hoạt hóa cột chiết bằng 5 mL MeOH, tiếp theo 5 mL H_2O; Bước 2: chuyển 100 mL mẫu đã được lọc cặn qua giấy lọc GF/F 0,7 µm và chỉnh pH 5 bằng acid formic qua cột chiết; Bước 3: rửa tạp bằng 6 mL H_2O; Bước 4: rửa giải bằng 6 mL MeOH chứa 1 % NH_3; Bước 5: thổi khô mẫu bằng dòng khí N_2 và hòa tan lại tới 1 mL bằng dung dịch ACN : H2O tỉ lệ 90:10 v/v chứa IS 20 µg/L; Bước 6: Lọc mẫu qua màng lọc 0,45 µm và tiêm vào hệ thống HPLC-MS.

2.4. Thông số HPLC cho phân tách ofloxacin

Pha tĩnh: cột Zorbax C18 (150 mm x 4,6 mm, 5 µm), được ổn nhiệt ở 40 °C. Thể tích mẫu tiêm 10 µL. Chương trình pha động theo chế độ gradient (bảng 1) tại tốc độ dòng 0,5 mL/phút.

Bảng 1. *Chế độ chạy gradien pha động.*

Thời gian (phút)	Pha động A (axit focmic 0,5%)	Pha động B (axetonitrile)	Tốc độ dòng (µL/phút)
0	90	10	500
4	90	10	500
7	10	90	500
9	10	90	500
13	90	10	500
18	90	10	500

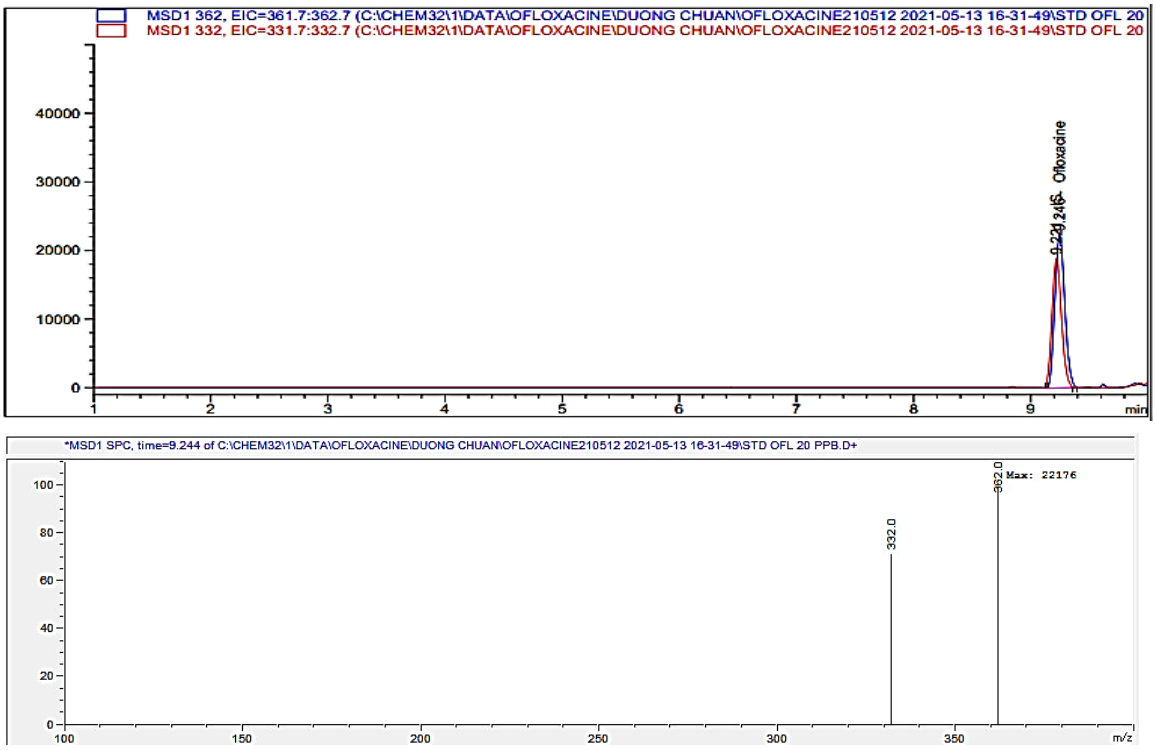
2.5. Thông số MS cho nhận danh ofloxacin

Buồng ion hóa ESI được cài đặt thế ion hóa -4000 V, tốc độ khí làm khô 8 L/phút, áp suất phun sương là 30 bar và nhiệt độ buồng ion hóa là 275 °C. Ofloxacin được ghi tín hiệu SIM với chế độ ion hóa dương tại ion m/z 362.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhận danh Ofloxacin bằng HPLC-MS

Trong cấu trúc hợp chất ofloxacin chứa các nhóm chức amoni bậc 3 hình thành lên các liên kết hydrogen với các gốc silanol tự do trên pha tĩnh cột C18. Liên kết này khiến mũi sắc ký bị kéo đuôi, gây khó khăn cho quá trình lấy diện tích mũi sắc ký trong quá trình định lượng. Do đầu dò khối phổ cần các thành phần pha động dễ bay hơi nên không thể sử dụng các tác chất che tâm silcanol tự do như triethylamin. Chính vì vậy, trong nghiên cứu này, thành phần pha động chứa acid formic nồng độ 0,5% nhằm triệt ion các nhóm silanol tự do trên pha tĩnh cột C18, giúp hạn chế hiện tượng kéo đuôi mũi sắc ký (hình 1).



Hình 1. *Sắc ký đồ và phổ khối của ofloxacin 20 µg/L.*

Cấu trúc ofloxacin chứa các tâm có thể tạo điện tích dương (amin bậc 3) và tâm tạo điện tích âm (-COOH). Tuy nhiên, để thông số sắc ký hoạt động được tại tâm điện tích âm cần môi trường pha động có pH kiềm, điều này ảnh hưởng tới phạm vi hoạt động và tuổi thọ của cột sắc ký. Với lập luận trên, chế độ ion hóa dương được lựa chọn cho ghi nhận tín hiệu khối phổ của ofloxacin. Trên sắc ký đồ (hình 1) thấy rằng ofloxacin được rửa giải tại 9,244 phút. Mũi sắc ký của nội chuẩn được rửa giải đồng thời, tuy nhiên, sự khác nhau về tín hiệu m/z nên không gây ảnh hưởng tới quá trình định lượng.

Trong khảo sát quy trình phân tích, tất cả các mẫu đều được tầm soát sự xuất hiện của nội chuẩn ciprofloxacin và xác nhận không phát hiện trong mẫu. Do đó, ciprofloxacin đươc sử dụng làm nội chuẩn cho quá trình định lượng ofloxacin. Ciprofloxacin được sử dụng làm nội chuẩn do sự tương đồng về mặt cấu trúc và tính chất hóa lý với ofloxacin, tuy nhiên nếu nền mẫu có chứa ciprofloxacin thì cần sử dụng chất nội chuẩn khác thay thế cho quá trình phân tích.

3.2. Tối ưu hóa quá trình chiết pha rắn

Cột chiết pha rắn Oasis HLB có pha tĩnh được làm trên nền polymer nên cột có thể được sử dụng trong khoảng pH rộng. Trên cột chứa cả 2 nhóm phân cực (vinyl pyrolidinone) và không

phân cực (divinylbenzene) cân bằng nhau nên cột Oasis HLB với tương tác chính là tương tác lưỡng cực – lưỡng cực vì thế cột Oasis HLB có thể lưu giữ tốt các chất kém phân cực đến phân cực; đối với những hợp chất rất phân cực, nếu muốn thực hiện trên cột này thì có thể thay đổi pH hoặc tạo phản ứng hóa học để làm giảm độ phân cực và có thể lưu giữ trên cột.

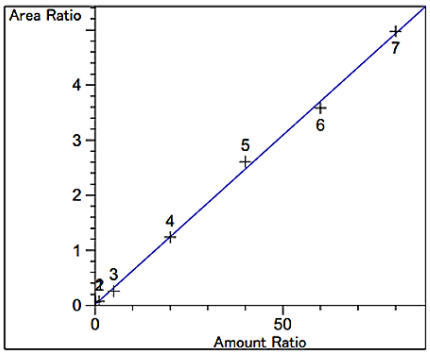
Các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình lưu giữ và rửa giải ofloxacin trên cột oasis HLB được khảo sát bao gồm: pH mẫu trước khi lưu giữ, thể tích mẫu, dung môi rửa tạp, dung môi rửa giải được đánh giá. Các khảo sát được thực hiện trên dung dịch chuẩn oflaxacine có nồng độ 20 µg/L và hiệu suất thu hồi (%HSTH) của toàn bộ quá trình phân tích được sử dụng làm thông số so sánh các kết quả khảo sát. Thể tích mẫu: Nền mẫu nước thải có thành phần phức tạp, nên thể tích mẫu tải lên cột cần phù hợp tránh hiện tượng quá tải dung lượng cột. Các mức thể tích 20 mL, 50 mL và 100 mL được sử dụng để tải lên cột chiết SPE với tốc độ 3 mL/phút, tại các mức thể tích mẫu cho %HSTH đều lớn hơn 80% và có sự khác biệt không quá lớn. Do đó, để có hệ số làm giàu mẫu đủ cao, chọn thể tích mẫu là 100 mL sử dụng cho các đánh giá tiếp theo. Giá trị pH của mẫu trước khi tải lên cột SPE được khảo sát, nhằm đồng nhất và ổn định mẫu, nhằm có thể so sánh kết quả của các mẫu được lấy tại các vị trí khác nhau về không gian và thời gian. Các mức pH 3, 5, 7 và 9 của mẫu được điều chỉnh để tải lên cột SPE, các mức được làm lặp lại 3 lần để đánh giá độ lệch chuẩn (SD). Kết quả khảo sát cho thấy rằng, phần trăm hiệu suất thu hồi có xu hướng tăng khi pH tăng và đạt gần 100% tại mức pH 9, tuy nhiên, độ lệch chuẩn SD lại lớn hơn các mức pH thấp. Trong một quy trình phân tích, độ ổn định là một yếu tố quan trọng, do đó, mức pH 5 (% HSTH đạt 83,2%) được lựa chọn nhằm đảm bảo % HSTH và độ ổn định của phương pháp. Các khảo sát về dung môi rửa tạp nhận thấy rằng, với 6 mL H_2O được sử dụng không xuất hiện tín hiệu chất phân tích, nhưng đường nền tổng ion (TIC) HPLC-MS giảm đáng kể so với khi không áp dụng rửa tạp. Dung môi rửa giải được thực hiện trên các điều kiện khác nhau về môi trường bao gồm: MeOH, MeOH chứa 1% acid formic, MeOH chứa 1% NH_3. Kết quả nhận thấy sự khác biệt rõ rệt về % HSTH, cụ thể, MeOH có % HSTH rất thấp, MeOH chứa acid formic có %HSTH đạt 48,2%, MeOH chứa NH_3 có %HSTH đặt 87,2%. Qua đây, áp dụng 6 mL H_2O cho bước rửa tạp và 6 mL MeOH chứa 1% NH_3 cho bước rửa giải ofloxacin khỏi cột SPE.

3.3. Độ tuyến tính của đường chuẩn

Tiến hành dựng đường chuẩn của ofloxacin trong khoảng nồng độ từ 0,1 đến 80 µg/L. Thực hiện phân tích ghi tín hiệu HPLC-MS theo các điều kiện được nêu trong (mục 2.4). Kết quả cho thấy rằng, ofloxacin có khoảng tuyến tính tốt trong khoảng nồng độ từ 0,1 – 80 µg/L, hệ số tương quan đạt 0,9991. Kết quả được tổng hợp ở bảng 2.

Bảng 2. *Khoảng tuyến tính, phương trình đường chuẩn và hệ số tương quan của kháng sinh ofloxacin trên nền mẫu nước.*

Kháng sinh	Khoảng tuyến tính (ng/L)	Phương trình đường chuẩn	R^2
Ofloxacin	0,1 - 80	y = 1145,5x + 318,0	0,9991



Hình 2. *Đường chuẩn phân tích ofloxacin.*

3.4. Xác định độ thu hồi, độ lệch chuẩn tương đối

Lấy 100 mL mẫu trắng mỗi lần thí nghiệm, thêm hỗn hợp chất chuẩn với hàm lượng 2 µg/L, 50 µg/L và 100 µg/L, làm lặp lại n=10 lần với từng nồng độ, tính độ thu hồi, độ lệch chuẩn tương đối (%RSD), kết quả thể hiện ở bảng 3. Theo tiêu chuẩn của Liên minh Châu Âu 2002/657/EC [9] khi phân tích các mẫu thêm chuẩn ở nồng độ <1 µg/L độ thu hồi chấp nhận được là từ 50 đến 120%, vậy kết quả tính độ thu hồi của các kháng sinh nghiên cứu tại khoảng nồng độ khảo sát đạt tiêu chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối thấp nhất là kháng sinh OFL 2,1% tại nồng độ 50 µg/L, theo tiêu chuẩn của AOAC độ thu hồi của các kết quả phân tích nằm trong khoảng giới hạn cho phép.

Bảng 3. *Độ thu hồi, độ lệch chuẩn tương đối, độ không đảm bảo đo.*

Kháng sinh	2 µg/L (n=10)		50 µg/L (n=10)		100 µg/L (n=10)		U (%)
	Độ thu hồi (%)	RSD (%)	Độ thu hồi (%)	RSD (%)	Độ thu hồi (%)	RSD (%)	
Ofloxacin	80,5	8,9	83,4	2,1	73,8	7,6	19,4

3.5. Xác định giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp

Tiến hành phân tích mẫu thêm chuẩn ofloxacin tại mức nồng độ 2 µg/L, thực hiện lặp 7 lần. Tiến hành xử lý mẫu theo (mục 2.3) và ghi tín hiệu HPLC-MS theo điều kiện (mục 2.4), LOD = 3xSD, LOQ = 10 xSD, trong đó, SD là độ lệch chuẩn của các kết quả phân tích mẫu lặp.

Bảng 4. *Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp.*

Kháng sinh	OFL
LOD (µg/L)	0,2
LOQ (µg/L)	0,6

3.6. Đánh giá sự hiện diện của dư lượng thuốc kháng sinh Ofloxacin trong nước thải sau xử lý của các bệnh viện

Các mẫu nước thải trước và sau khi xử lý bằng sinh học được lấy tại hệ thống xử lý nước thải của 12 bệnh viện tại thành phố Hồ Chí Minh. Lấy mẫu và bảo quản mẫu nước thải theo TCVN 6663 – 1:2011, TCVN 5999:1995, TCVN 6663 – 3:2016. Phân tích và tính toán với mẫu được lặp lại 3 lần. Kết quả trong bảng 6 cho thấy sự hiện diện của OFL ở 6 bệnh viện. Cao nhất là Bệnh viện Đa khoa Sài Gòn và Bệnh viện Nguyễn Tri Phương với nồng độ nước thải đầu vào và nước thải đầu ra tương đối cao: 48,85 ± 2,76 µg/L và 39,89 ± 1,76 µg/L; nước thải 19,95 ± 1,22 µg/L và 19,71 ± 1,47 µg/L. OFL là một loại kháng sinh mạnh, có nhiều tác dụng phụ nên hầu hết các bệnh viện không ưu tiên sử dụng loại kháng sinh này. Trong cả 12 bệnh viện, chỉ có 6 bệnh viện sử dụng kháng sinh ofloxacin một cách hạn chế. Đây là một loại kháng sinh khó phân huỷ nên có thể tích tụ ở nồng độ cao trong nước [10]. Bảng 6 cũng cho thấy, hiệu quả xử lý nước thải chứa dư lượng kháng sinh OFL bằng công nghệ sinh học truyền thống chỉ đạt từ 37,1% đến 59,5%.

Bảng 5. *Sự hiện diện của OFL trước và sau khi xử lý sinh học.*

TT	Bệnh viện	Ofloxacin (µg/L)		Hiệu xuất xử lý (%)
		Đầu vào	Đầu ra	
1	BV Răng hàm mặt Trung Ương	KPH (<0,2)	KPH (<0,2)	-
2	BV Thống Nhất	KPH (<0,2)	KPH (<0,2)	-
3	BV Hùng Vương	KPH (< 0,2)	KPH (< 0,2)	-
4	BV Đa khoa Sài Gòn	48,85 ± 2,76	19,95 ± 1,22	59,2%
5	BV Gia Định	KPH (< 0,2)	KPH (< 0,2)	-

6	BV Chợ Rẫy	24,21 ± 1,05	15,32 ± 1,65	37,1%
7	BV Ung Bướu	22,12 ± 1,13	12,23 ± 0,95	44,7%
8	BV Bình Dân	13,78 ± 0,45	5,58 ± 0,31	59,5%
9	BV Tim Tâm Đức	0,65 ± 0,21	KPH (< 0,2)	-
10	BV Chấn thương chỉnh hình	KPH (< 0,2)	KPH (< 0,2)	-
11	BV Phụ sản Quốc tế Sài Gòn	KPH (< 0,2)	KPH (< 0,2)	-
12	BV Nguyễn Tri Phương	39,89 ± 1,76	19,71 ± 1,47	50,6%

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này đã xây dựng được phương pháp phân tích dư lượng kháng sinh tồn dư trong nước thải bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao kết hợp khối phổ. Kết quả cho thấy phương pháp phù hợp và có độ thu hồi cao để xác định nồng độ dư lượng kháng sinh ofloxacin. Trên cơ sở đó, phân tích đánh giá hiện diện của kháng sinh ofloxacin trong nước thải y tế tại các bệnh viện ở TPHCM với nồng độ từ 5,58 – 19,95 µg/L.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Alaton I.A., Dogruel S., Baykal E., Gerone G., *Combined chemical and biological oxidation of penicillin formulation effluent*, Journal of Environmental Management, **73(2)** (2004), 155–163.

[2]. Guerra P., Kim M., Shah A., Alaee M., Smyth S.A., *Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes*, Science of the Total Environment, **473–474** (2014), 235–243.

[3]. Duong Hong Anh , Pham Ngoc Ha et al., *Occurrence, fate and antibiotic resistance of fluoroquinolone antibacterials in hospital wastewaters in Hanoi, Vietnam*, Chemosphere, **72(6)** (2008), 968–973

[4]. Cañada-Cañada F., Espinosa-Mansilla A., Jiménez Girón A., Muñoz de la Peña A., *Simultaneous Determination of the Residues of Fourteen Quinolones and Fluoroquinolones in Fish Samples using Liquid Chromatography with Photometric and Fluorescence Detection*, Czech Journal of Food Sciences, **30(1)** (2012), 74–82.

[5]. Ke He, Lee Blaney, *Systematic optimization of an SPE with HPLC-FLD method for fluoroquinolone detection in wastewater*, Journal of Hazardous Materials, **282** (2014), 96-105.

[6]. Fang P.F., Cai H.L., Li H.D. et al., *Simultaneous determination of Isoniazid, Rifampicin, Levofloxacin in mouse tissues and plasma by high performance liquid chromatographytandem mass spaectrometry*, Journal of Chromatography B, **878(24)** (2010), 2286-2291.

[7]. Sun H., Wang H., Ge X., *Simultaneous determination of the combined drugs of ceftriaxone sodium, metronidazole, and levofloxacin in human urine by high-performance liquid chromatography*, International Journal of Science Innovations and Discoveries, **26(6)** (2012), 486-492.

[8]. Detlef A. Bohm & Carolin S. Stachel & Petra Gowik, *Validation of a multiresidue method for the determination of several antibiotic groups in honey by LCMS/MS*, Anal Bioanal Chem, **403** (2012) , 2943–2953.

[9]. Official Journal of the European Communities. *"Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results"*. Commission Decision 2002/657/EC.

[10]. La Thi Quynh Lien, Nguyen Quynh Hoa, Nguyen Thi Kim Chuc et al., *Antibiotics in Wastewater of a Rural and an Urban Hospital before and after Wastewater Treatment, and the Relationship with Antibiotic Use—A One Year Study from Vietnam*, International Journal of Environmental Research and Public Health, **13(6)** (2016), 558.

ABSTRACT

DETERMINATION OF OFLOXACIN ANTIBIOTIC RESIDUES
IN WASTEWATER BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY
WITH MASS SPECTROMETRY (LC-MS)

A sensitive and selective liquid chromatographic method incorporating mass spectrometry has been developed for the determination of ofloxacin in medical wastewater over a concentration range of 0.1-80 µg/L. The study conducted to optimize the conditions for liquid-liquid extraction and solid phase extraction, followed by method validation parameters which were also determined through samples fortifying standards at important concentrations. The study used an Agilent HPLC system (Model 1200series) equipped with an Agilent 6130 Series Quadrupole LC/MS system with a Zorbax SB-C18 column (5 µm; 150 mm × 4.6 mm). The program is run with a mobile phase consisting of acetonitrile and water containing 0.1% formic acid (50:50, v/v), at a flow rate of 0.5 mL/min, sample injection volume 10 µL. The results show that the method has accuracy from 70.05% - 115.56%, detection limit of 0.2 ppb and limit of quantification from 0.6 ppb. Analysis of medical wastewater samples from the hospital after treatment showed that ofloxacin antibiotic residues were detected in concentrations ranging from 5.58 ± 0.31 ppb to 19.95 ± 1.22 ppb. The developed procedure is feasible for the determination of residues of ofloxacin in medical wastewater.

Keywords: Ofloxacin; LC-MS; Medical wastewater; Antibiotic residues.

Nhận bài ngày 15 tháng 9 năm 2021
Hoàn thiện ngày 20 tháng 10 năm 2021
Chấp nhận đăng ngày 28 tháng 10 năm 2021

Địa chỉ: Viện Nhiệt đới môi trường, Viện Khoa học và Công nghệ quân sự.
*Email: minhmt0810@gmail.com.