

NGHIÊN CỨU SẢN PHẨM CHUYỂN HÓA CỦA DIAZINON TRONG MÔI TRƯỜNG ĐẤT BẰNG PHƯƠNG PHÁP GC/MS

Lê Thị Trinh^{1,*}, Thành Thị Thu Thủy², Quách Thị Minh Thu³, Nguyễn Tiến Tài²

¹Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội, Địa chỉ ?

²Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

³Viện Bảo vệ thực vật

*Email: ltrinh05@yahoo.com

Đến Tòa soạn: xx/xx/xxxx; Chấp nhận đăng: 4/6/2013

TÓM TẮT

Bài báo công bố các kết quả về xác định các sản phẩm chuyển hóa của thuốc trừ sâu chứa diazinon trong đất bằng phương pháp GC/MS. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine (1), sunfotep (2), hydroxydiazinon (3), hydroxydiazoxon (4), diazoxon andehyde (5) và 2-hydroxydiazinon (6) là 6 sản phẩm chuyển hóa chủ yếu của diazinon trong đất ở điều kiện thực nghiệm.

Từ khóa: diazinon, sản phẩm chuyển hóa, đất, GC/MS.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hóa chất bảo vệ thực vật (HCBVTV) là các hợp chất hữu cơ tổng hợp được sử dụng để kiểm soát cỏ dại và các loài sinh vật gây hại cho cây trồng như sâu, côn trùng. Phần nhiều các sản phẩm chuyển hóa của HCBVTV có độc tính thấp hơn so với chất ban đầu, tuy nhiên gần đây, các nhà khoa học bắt đầu quan tâm tới việc đánh giá ảnh hưởng tổng quát của các sản phẩm chuyển hóa này đến môi trường. Trong một số nghiên cứu, các sản phẩm chuyển hóa độc hại hoặc ảnh hưởng đến môi trường nhiều hơn chất gốc, điều này không chỉ nằm ở độc tính mà còn ở tính di động của chất chuyển hóa. Do đó để đánh giá tác động của HCBVTV rất cần các nghiên cứu về sản phẩm chuyển hóa của chúng [1].

Trong các HCBVTV thuộc nhóm cơ phospho, Diazinon là hoạt chất của hơn 20 thuốc trừ sâu sử dụng trong nông nghiệp, một số loại HCBVTV trong làm vườn và diệt các loài gặm nhấm. Diazinon có tên khoa học O,O-diethyl O-2-isopropyl-6-methylpyrimidin-4-yl- phosphorothioate, là sản phẩm tổng hợp không tồn tại trong tự nhiên [2]. Theo một số nghiên cứu về quá trình phân hủy diazinon trong nước, không khí và quá trình chuyển hóa trong thực vật, động vật, các sản phẩm chuyển hóa xác định được chủ yếu là diazoxon, 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine (IMHP), diethylthiophosphoric (DETP) và diethylthiophosphoric (DEP), trong đó diazoxon là chất có độc tính cao hơn diazinon và IMHP là chất bền hơn, có tính linh

động cao hơn diazinon [3]. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu chi tiết nào về các sản phẩm chuyển hóa của thuốc trừ sâu chứa Diazinon trong đất.

Hiện nay, có rất nhiều phương pháp được sử dụng trong nghiên cứu quá trình phân hủy thuốc trừ sâu cơ phospho trong các điều kiện môi trường khác nhau, trong đó sắc ký khí – khối phổ (GC-MS) là một trong những công cụ được sử dụng thường xuyên nhất, cho phép phân tích định lượng thuốc trừ sâu và các sản phẩm phân hủy lên đến giới hạn phần tỷ (ppt) [4,5].

Trong bài báo này, phương pháp GC/MS được sử dụng để nghiên cứu các sản phẩm chuyển hóa của diazinon trong môi trường đất.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất

- Thuốc trừ sâu chứa Diazinon do Công ty Cổ phần bảo vệ thực vật Sài Gòn sản xuất, với tên thương mại là Diaphos.
- Các dung môi dùng cho sắc ký Acetone, N- hexan, Diclometan (DCM) và một số hóa chất khác của hãng Merck.
- Dung dịch đệm phosphat có pH =7 được pha từ các hóa chất tinh khiết phân tích của Merck

2.2. Thiết bị

Thiết bị GC/MS: GC-MS- 2010 Shimadzu tại Viện bảo vệ thực vật. Phép đo sử dụng cột Rtx-5MS, có chiều dài 30 m, đường kính 0,25 mm, đường kính lõi 0,25 μ m, lấy mẫu tự động, dùng kỹ thuật ion hóa electron EI và ghi khối bằng bộ phân tích tứ cực. Chế độ phân tích mẫu: Khí mang Heli, tốc độ khí mang 1,5 ml/phút; Nhiệt độ bơm mẫu: 250 °C; Nhiệt độ lò: chạy theo chương trình gia nhiệt: ban đầu 10 °C, giữ 5 phút; tiếp tăng 15 °C/phút đến 150 °C và 5 °C/phút đến 250 °C, giữ 20 phút. Sử dụng thư viện phổ PESTEI_3.lib và PESTNCI3.lib để so sánh các thông tin thu được.

Các thiết bị khác: thiết bị cắt quay chân không, máy đo pH đất BEN MEADOWS (Mỹ), máy đo độ ẩm đất SOIL MOISTURE METER (Mỹ).

2.3. Chuẩn bị mẫu thí nghiệm

Mẫu đất thí nghiệm được chuẩn bị theo quy trình như đã công bố [6]. Trong nghiên cứu này mẫu đất được duy trì ở độ ẩm trung bình 15 – 16 % và pH = 7.

Mẫu đất dùng để nghiên cứu sản phẩm chuyển hóa được lấy sau 12 ngày là thời gian tương ứng với chu kỳ bán hủy [6] kể từ khi rải thuốc trừ sâu.

Mẫu so sánh là mẫu đất trộn diaphos tại thời điểm 0 ngày (D1)

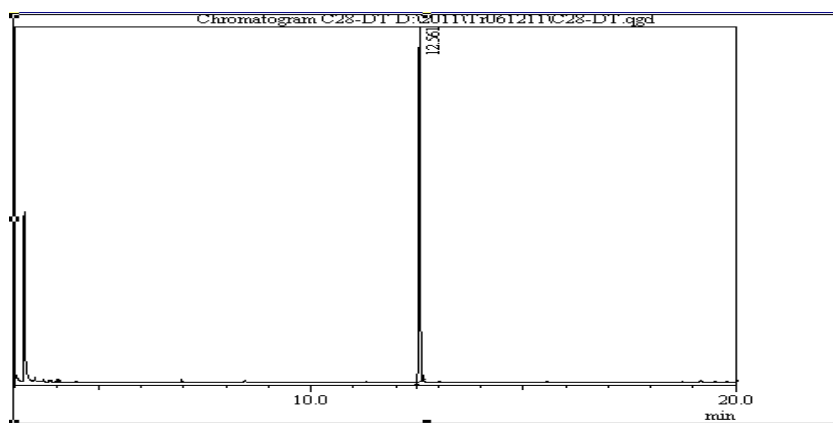
2.4. Phương pháp chiết tách và xác định sản phẩm phân hủy

Cân 25 gam đất đã xử lý sơ bộ cho vào bình tam giác có nắp, thêm 100 ml dung dịch n-hexane : acetone (1 : 1 v/v), lắc trong 1 giờ, gạn dịch chiết vào bình cầu, lặp lại quy trình chiết một lần nữa. Loại nước trong dịch chiết bằng Na₂SO₄ khan, lọc dịch chiết qua giấy lọc Walkman. Cô dịch chiết trên thiết bị cắt quay chân không đến khoảng 1 ml, thêm 5 ml dung dịch acetone,

cô tiếp đến 1 ml và làm khô bằng khí nitơ. Hòa tan phần cặn trong 1ml acetone và phân tích trên thiết bị GC/MS, sử dụng kỹ thuật ion hóa va chạm điện tử (electron impart EI).

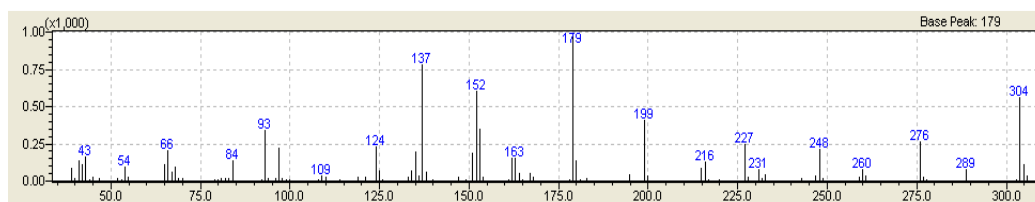
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả phổ CG/MS của mẫu D1 có một tín hiệu với cường độ cao tại thời gian lưu bằng 12,561 (hình 1), so sánh thời gian lưu và phổ MS với thư viện phổ xác định được đây chính là diazinon (m/z 304 – hình 2a, b).

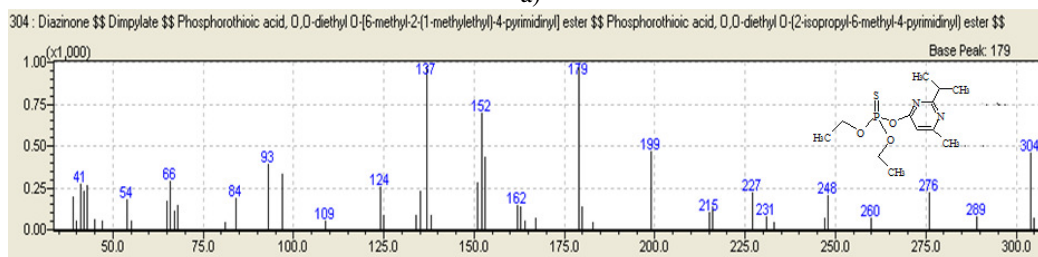


Hình 1. Sắc kí đồ của mẫu D1. (Cung cấp lại hình không có khung)

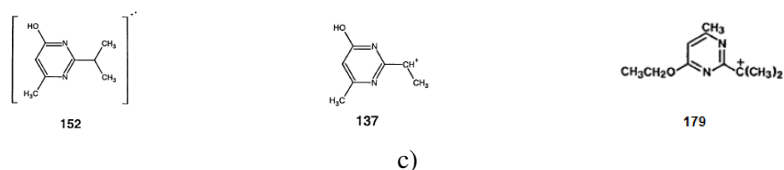
Thông tin thu được từ phổ MS là các tín hiệu đặc trưng cho cấu trúc của nhóm pyrimidine. Mảnh đặc trưng m/z 152 xuất hiện với tín hiệu khá mạnh do sự phân cắt liên kết P-O, mảnh m/z 137 hình thành từ mảnh m/z 152 sau khi mất đi một nhóm methyl. Mảnh lớn nhất (base peak) ở m/z 179 là mảnh đại diện phân cắt liên kết P = O (vòng pirimidine), đồng thời di chuyển nhóm ethyl ete và liên kết với vòng thơm. Cấu trúc các ion này được mô tả ở hình 1c. Các kết quả này là phù hợp với các công bố khác [7, 8].



a)

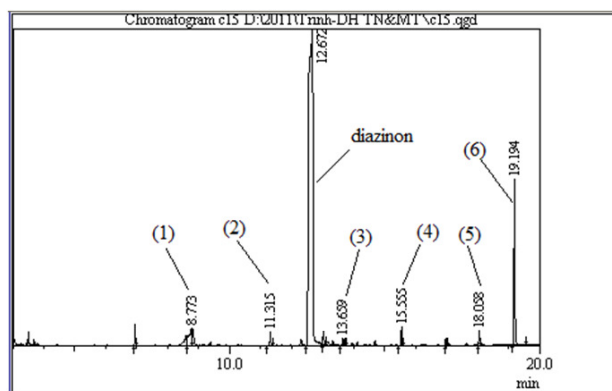


b)



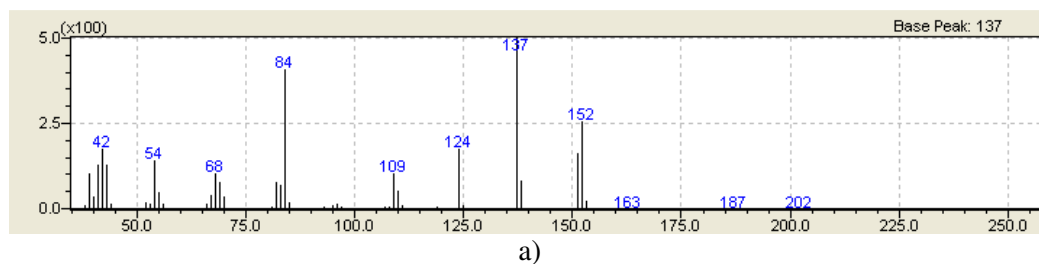
Hình 2. a) Phổ MS của diazinon đo được; b) Phổ MS của diazinon theo thư viện phổ; c) Cấu trúc một số mảnh đặc trưng.

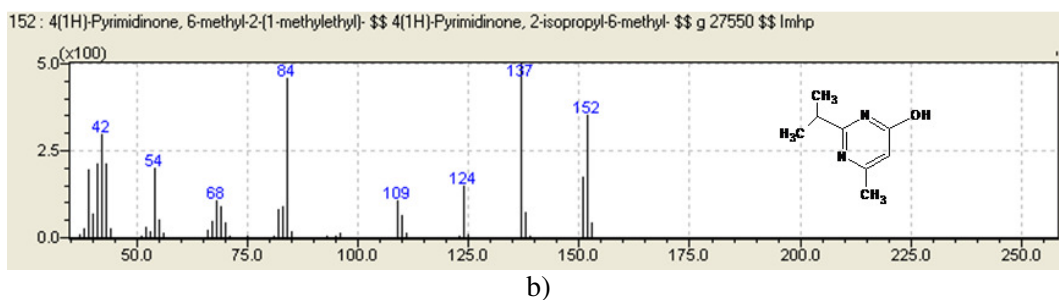
Sắc kí đồ của mẫu chiết từ đất ở pH = 7 sau 12 ngày rải thuốc trừ sâu diaphos được đưa ra ở hình 3. So sánh với mẫu D1, các chất được dự đoán là sản phẩm chuyển hóa của diazinon là (1), (2), (3), (4), (5) và (6) như được chỉ ra trên hình 3. Cấu trúc hóa học của các chất chuyển hóa được dự đoán trên cơ sở phân tích phổ MS và so sánh phổ thực nghiệm với phổ có trong thư viện.



Hình 3. Sắc kí đồ của mẫu chiết từ đất ở pH 7 sau 12 ngày rải thuốc trừ sâu diaphos. (Cung cấp lại hình không có khung)

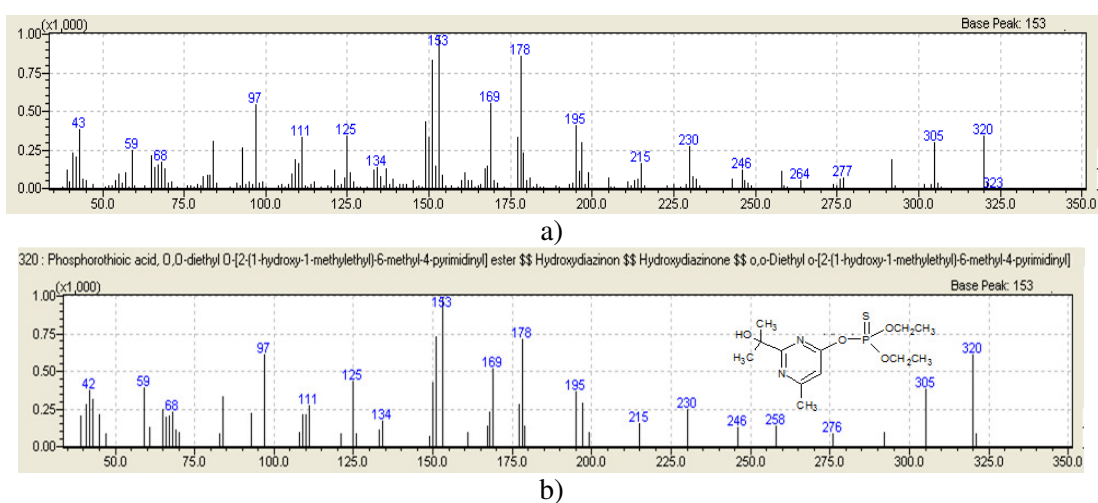
So sánh với thư viện phổ phát hiện hợp chất (1) ở RT = 8,592 là 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine (IMHP) (hình 4). Pic cơ bản ở m/z = 137 hình thành do ion phân tử IMHP (m/z = 152) mất đi một nhóm methyl. Tín hiệu m/z 84 được xác định tương ứng mô hình phân mảnh MS/MS diazinon.





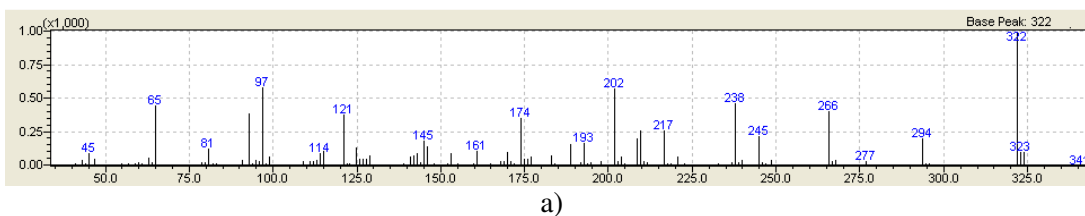
Hình 4. Phổ MS của IMHP: a) Thực nghiệm, b) Thư viện phổ.

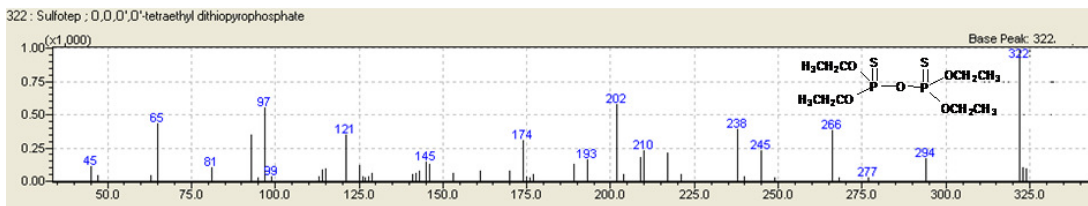
Pic (3) với thời gian lưu 13,658 phút được xác định là hydroxydiazinon (O, O-diethyl O-[2 - (1-hydroxy-1-methylethyl)-6-methylpyrimidine- 4-yl] thiophosphate) (hình 5).



Hình 5. Phổ MS của hydroxydiazinon: a) Thực nghiệm b) Thư viện phổ.

Pic (2) ứng với m/z 322 ở RT = 11,315 phút được xác định là sulfotep (O,O,O,O-tetraethyl dithiodiphosphate) (hình 6), đây là tạp chất có thể có trong diazinon thương mại [9], là một chất rất độc, đã bị yêu cầu hạn chế có mặt trong diazinon thành phẩm và quá trình phân hủy của diazinon cũng có thể tạo ra chất này [9]. Trong mẫu D₁ không có tín hiệu của sulfotep, chứng tỏ sản phẩm xác định được trong mẫu là sản phẩm chuyển hóa.

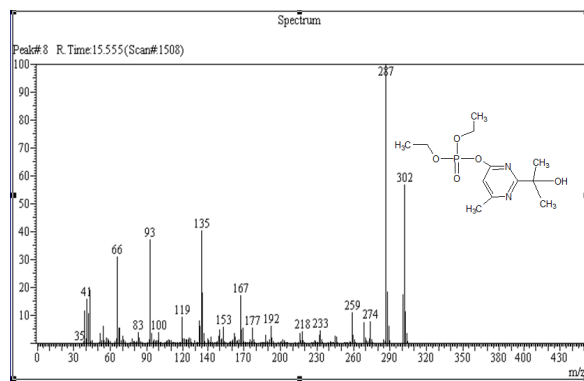




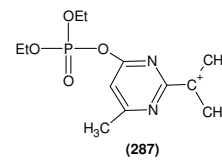
b)

Hình 6. Phổ MS của sunfotep: a) Thực nghiệm b) Thư viện phổ.

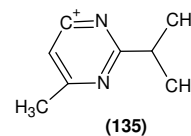
Sau khi phân tích các mảnh ion trên phổ MS của các chất (4), (5) và (6) chúng tôi rút ra kết luận: Hợp chất (6) có cường độ lớn trong sắc kí đồ, ứng với thời gian lưu 19,194 phút, m/z bằng 320 là 2-hydroxydiazinon. Hợp chất (4) có thời gian lưu là 15,555, m/z bằng 304 là diethyl 2-(1-hydroxy-1-methylethyl)-6-methylpyrimidin-4-yl phosphate (hydroxydiazoxon). Hợp chất (5) có thời gian lưu là 18,058, m/z bằng 302 là diazoxon andehyde. Phổ MS và cấu trúc các mảnh ion cơ bản của trên phổ của các chất được thể hiện ở hình 7.



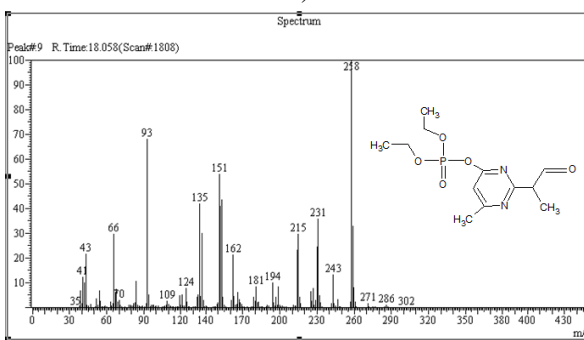
a)



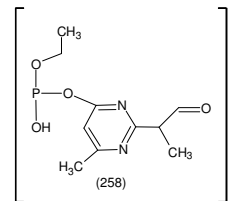
(287)



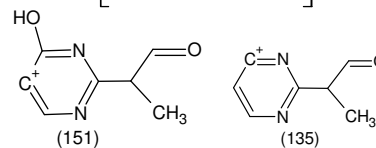
(135)



b)

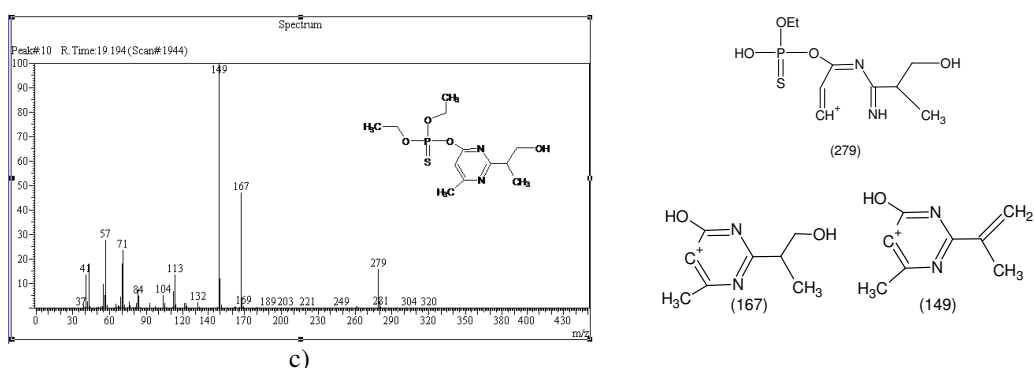


(258)



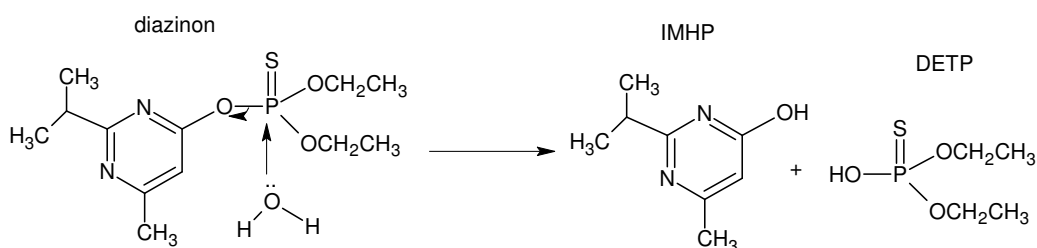
(151)

(135)

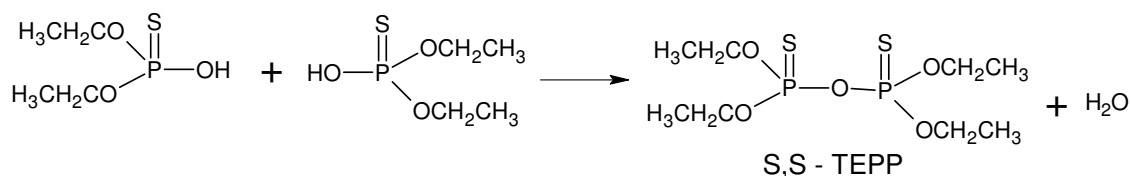


Hình 7. Phổ MS và các ion mảnh cơ bản của các chất (4), (5), (6). (Cung cấp lại hình không có khung)

IMHP là sản phẩm thủy phân của diazinon hình thành do quá trình tách liên kết P=O (nhóm pyrimidine). IMHP có thể hình thành do phản ứng thủy phân của diazinon dưới tác dụng của nước có trong đất:



Ở đây, không phát hiện được sự có mặt của axit diethylthiophosphoric (DETP), điều này có thể được lý giải, khi có mặt lượng nước rất nhỏ và dưới tác dụng của ánh sáng mặt trời, các phân tử axit này dễ dàng kết hợp với nhau tạo thành phân tử sunfotep (S,S – TEPP) [9]:



Sự có mặt của hydroxydiazinon (3), hydroxydiazoxon (4), diazoxon anealdehyde (5) và 2-hydroxydiazinon (6) có thể lý giải do quá trình oxi hóa kết hợp với thủy phân trong đất.

4. KẾT LUẬN

Trong bài báo này chúng tôi đã xác định các chất chuyển hóa của diazinon trong môi trường đất bằng phương pháp GC-MS. Kết quả tại điều kiện thực nghiệm đã phát hiện được 6 chất bao gồm: 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine (1), sunfotep (2), hydroxydiazinon (3), hydroxydiazoxon (4), diazoxon anealdehyde (5) và 2-hydroxydiazinon (6). Kết quả thu được sẽ giúp cho việc đánh giá ảnh hưởng của dư lượng diazinon trong đất đến môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Konstantinos A. Aliferis, Maria Chrysayi-Tokousbalides - Metabolomics in pesticide research and development: review and future perspectives, Springer Science and Business Media, LLC., 2010, p.19.
1. U.S. Department of Health and Human Services - Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological profile for diazinon, 2008.
2. Harper B., Luukinen B., Gervais J. A., Buhl K., Stone D. - Diazinon Technical Fact Sheet, National Pesticide Information Center - Oregon State University, 2009.
3. Koester C. J., Moulik A. - Trends in Environmental Analysis, Publications of Lawrence Livermore National Laboratory (UCRL-JRNL-211102), 2005.
4. Margarita Stoytcheva - Analytical Methods for Performing Pesticide Degradation Studies in Environmental Samples, Pesticides - Formulations, Effects, Fate; InTech (2011) 597-618. Thiệu Volume?
5. Lê Thị Trinh, Thành Thị Thu Thủy, Nguyễn Tiên Tài - Nghiên cứu cấu trúc và chuyển hóa Diazinon từ thuốc trừ sâu Diaphos trong môi trường đất. Phần II: Ảnh hưởng của pH đến thời gian bán hủy trong môi trường đất của Diazinon, Tạp chí Hóa học **38** (2010) 351-354.
6. Lopez-Avila V. - Mass Spectral Fragmentation of Diazinon and Diazinon-d10 under Electron Impact, Org. Mass Spectrom **20** (1985) 530-532.
7. Kouloumbos V. N., Tsipi D. F. - Identification of photocatalytic degradation products of diazinon in TiO₂ aqueous suspensions using GC-MS-MS and LC-MS with quadrupole time-of-line mass spectrometry, J. Am. Soc. Mass Spectrom. **14** (2003) 803-817.
8. Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority - The Reconsideration of Registrations of Products containing Diazinon and their Labels, Review report, 2003.

ABSTRACT

ELUCIDATION OF TRANSFORMATION PRODUCTS OF DIAZINON IN SOIL BY USING GC/MS

Le Thi Trinh^{1,*}, Thanh Thi Thu Thủy², Quach Thi Minh Thu³, Nguyen Tien Tai²

¹*Hanoi University of Resources and Environment, Addres*

²*Institute of Chemistry, VAST, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam.*

³*Plant Protection Research Institute, Addres*

*Email: lntrinh05@yahoo.com

In this study, we report the elucidation of transformation products of pesticide diazinon in soil by using GC/MS. The result indicated that 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine (1), sunfotep (2), hydroxydiazinon (3), hydroxydiazoxon (4), diazoxon andehyde (5) and 2-hydroxydiazinon (6) are the main transformation products of diazinon in soil at study conditions.

Keywords: diazinon, transformation product, soil, GC/MS.

-Tác giả cung cấp các hình ảnh minh họa

-Bổ sung địa chỉ cơ quan

