

ACEPHATE VÀ CHUYỂN HÓA CHẤT METHAMIDOPHOS TRONG TRÁI CÀ TÍM ĐƯỢC XỬ LÝ VỚI MONSTER 40EC

Đến tòa soạn 31-03-2022

Nguyễn Tiến Đạt¹, Lê Tất Mua¹, Tạ Thị Tuyết Nhung¹, Nguyễn Thị Hồng Thắm¹,
Đặng Trung Tín¹, Huỳnh Phương Thảo²

1. Viện nghiên cứu hạt nhân, Đà Lạt

2. Trường Đại học Đà Lạt

Email: tiendat1976@gmail.com; thaohp@dlu.edu.vn

SUMMARY

ACEPHATE AND ITS METHAMIDOPHOS METABOLITE IN EGGPLANT FRUITS TREATED WITH MONSTER 40EC

Monster 40 EC was applied to eggplant plants. Its fate in fruits was studied. There were two applications in our treatments as following one application of 8g a.i. acephate/8L water and one application of 32g a.i. acephate/8L water. Samples of eggplant were random collected from treated plants after a time elapse of 0 (three hours), 2, 4, 6, ..., and 60 days after insecticide treatments. The quantitative determination of acephate and methamidophos were done by GC-MS. Investigating the relationship between acephate and methamidophos demonstrated that 6.3 -13.5% of acephate was degraded into methamidophos in eggplant fruits. The calculated half-life of acephate was 4.3 days. The methamidophos was found to be more persistence than acephate with 11.4 days. The evolution of the acephate and methamidophos concentration behaviour in eggplant led to the behaviour empirical equations: $Y = 1.926t^{0.55}e^{-0.21t}$ for acephate (one application of 8g a.i. acephate/8L water), $Y = 4.029t^{0.676}e^{-0.228t}$ for acephate (one application of 32g a.i. acephate/8L water), $Y = -0.0007t^2 + 0.0197t + 0.016e^{-0.134t}$ for methamidophos (one application of 8g a.i. acephate/8L water) and $Y = -0.0008t^2 + 0.027t + 0.036e^{-0.134t}$ for methamidophos (one application of 32g a.i. acephate/8L water).

Keywords: acephate, methamidophos, behaviour

1. MỞ ĐẦU

Nghiên cứu hành vi của các thuốc bảo vệ thực vật trên cây trồng là việc làm cần thiết. Từ đó có thể cung cấp những thông tin thiết yếu về hành vi, sự phân hủy của chúng trong các sản phẩm nông nghiệp. Acephate là thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ với các tên thương mại Monster 40EC, Mytox 75SP, Lancer 40EC, ... được sử dụng trong việc kiểm soát dịch hại và bảo vệ mùa màng với nhiều loại cây trồng khác nhau. Một trong những chuyển hóa chất của acephate đã được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm là methamidophos. Thật vậy, LD₅₀ của acephate qua đường miệng với chuột cái và

chuột đực tương ứng là 866mg/kg và 945mg/kg [1]. Còn LD₅₀ của methamidophos qua đường miệng với chuột cái và chuột đực tương ứng là 16mg/kg và 21mg/kg [1]. Theo nghiên cứu sự chuyển hóa acephate thành methamidophos trên thực vật của một số tác giả cho thấy khoảng 5-10% acephate bị phân hủy chuyển thành methamidophos [5, 9]. Trong công trình này mục đích những nghiên cứu của chúng tôi tập trung chủ yếu vào việc mô phỏng hành vi của acephate và methamidophos trong quả cà tím theo liều lượng áp dụng và tính toán thời gian bán hủy

của chúng trong điều kiện nghiên cứu tại hiện trường.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị

2.1.1. Hóa chất

Các chất chuẩn acephate và methamidophos (độ tinh khiết $\geq 98\%$), của hãng Fluka, Cộng hòa Liên bang Đức. Monster 40EC, hoạt chất chính acephate 400g/L của công ty Nông dược Điện Bàn. Tất cả các dung môi hữu cơ được sử dụng (CH_2Cl_2 99,8%, ethyl acetate 99,5%, toluene 99,9% và acetone 99,8%) là loại tinh khiết và dùng cho sắc ký của hãng Merck, Cộng hòa liên bang Đức. Na_2SO_4 , than hoạt tính, đều của hãng Merck. Na_2SO_4 và than hoạt tính được nung ở 400°C từ 5-7h. Sau khi nung, Na_2SO_4 khan và than hoạt tính được cất giữ trong bình hút ẩm và sử dụng trong vòng 2 tuần.

2.1.2. Dụng cụ

Máy xay inox, hiệu Kitchen Flower, Hàn Quốc. Bình tam giác 250ml có nút nhám để chiết mẫu. Các dụng cụ thông thường của phòng thí nghiệm. Giấy lọc băng xanh Φ 9cm và Φ 11cm.

2.1.3. Thiết bị

Hệ thống máy sắc ký khí khối phổ GCMS - QP 2010 plus của hãng Shimadzu, Nhật Bản. Buồng tiêm mẫu: Hoạt động theo chế độ không chia dòng (splitless), với nhiệt độ được cài đặt ở 250°C . Bình khí He, độ tinh khiết 99,999%, lưu tốc qua cột 2,2ml/ phút. Cột mao quản MDN - 12, chiều dài 30m, đường kính trong 0,32mm, bề dày lớp phủ 0,25 μm . Cột bảo vệ chiều dài 5m được gắn nối tiếp với cột mao quản MDN - 12. Chương trình nhiệt độ cột tách: 50°C (1 phút), tăng $20^\circ\text{C}/\text{phút}$ đến 140°C , tăng $10^\circ\text{C}/\text{phút}$ đến 280°C (giữ 5 phút).

Detector khối phổ (MS) với nguồn ion hóa EI (70eV), 200°C ; Interface 250°C ; Thời gian cất dung môi 4,5 phút. Các mảnh SIM định lượng và mảnh SIM tham chiếu của

	Mảnh định	Mảnh tham chiếu (amu)	
Methamidophos	94 (100%)	95 (63%)	141 (42%)
Acephate	136 (100%)	94 (49%)	-

2.2. Thực nghiệm hiện trường



Hình 1. Vườn thí nghiệm trồng cà tím.
Hộ anh Lê Văn Quế, xã Hiệp An, Huyện Đức Trọng, Tỉnh Lâm Đồng

Các thí nghiệm được tiến hành tại Hiệp An, Đức Trọng, Lâm Đồng. Vườn có diện tích 3 sào. Vườn trồng cà tím được chia thành nhiều luống, mỗi luống cách nhau 50cm. Khoảng cách giữa các cây 20cm. Loại giống cà tím CE1, với thời gian sống phụ thuộc vào chế độ chăm sóc, thời gian ươm giống là 1 tháng, từ khi trồng đến thu hoạch là 2 tháng, thời gian thu hoạch từ 6 - 8 tháng. Loại giống này trồng được quanh năm, nhiệt độ thích hợp $25 - 35^\circ\text{C}$ (thời tiết thuận lợi tại vùng Đức Trọng, Đơn Dương). Quá trình phun xử lý bằng Monster 40EC được tiến hành theo hình thức xử lý một lần với nghiệm thức 1(13/07/2012 - 11/09/2012): 8g hoạt chất acephate/8L và nghiệm thức 2 (13/07/2012 - 11/09/2012): 32g hoạt chất/8L. Nhiệt độ tại thời điểm thí nghiệm 25°C , độ ẩm 80%, ánh sáng dao động trong khoảng 40 - 90%. Thời gian cách ly bằng 0 ngày được qui định cho việc lấy mẫu ngay sau khi áp dụng thuốc chứa hoạt chất lên vườn thực nghiệm 3 giờ. Các thời gian cách ly khác được tính sau khi áp dụng thuốc chứa hoạt chất lên vườn thực nghiệm 2, 4, 6, ... đến 60 ngày. Các mẫu cà tím sử dụng cho phân tích được lấy định kì theo thời gian 0 (3h), 2, 4, 6, ..., 60 ngày.

2.3. Lấy mẫu

Mẫu được lấy ngẫu nhiên trên đồng ruộng theo hình chữ S, mỗi cây dùng kéo cắt khoảng 2 - 3 trái, thu vào túi PE, bỏ qua các cây nằm tại các mép rìa thửa ruộng ứng với 2 đầu của hình chữ S. Khối lượng mỗi mẫu lấy là 3kg, đựng trong túi PE, ghi rõ thời gian, địa điểm và kí hiệu mẫu. Tiến hành xử lý mẫu ngay sau khi đem về phòng thí nghiệm. Tại phòng thí nghiệm, toàn bộ mẫu lấy về được bỏ cuống và toàn bộ mẫu được xay trộn đồng nhất trên cối xay inox. Sau khi đồng nhất, mẫu được trải lên tấm nilon

sạch và giảm kích thước mẫu đến kích thước mẫu phòng thí nghiệm theo phương pháp đường chéo hình chữ nhật. Thu giữ mẫu trong túi PE sạch, mã hóa mẫu và lưu giữ mẫu kích thước phòng thí nghiệm trong tủ lạnh.

2.4. Phương pháp phân tích

2.4.1. Ly trích acephate và methamidophos khỏi nền mẫu [2,3]

10,0g mẫu sau khi đồng nhất hóa và giảm về kích thước mẫu phòng thí nghiệm, được chuyển vào bình tam giác 250ml có nút nhám, thêm vào 7g Na₂SO₄ khan. Tiến hành chiết 3 lần, mỗi lần với 20ml ethylacetate và lắc trong vòng 3-5 phút. Thu toàn bộ pha hữu cơ vào phễu chiết 125ml. Thêm vào phễu chiết 1,0g than hoạt tính. Lắc phễu chiết trong vòng 3-5 phút. Ly tâm, chuyển toàn bộ pha hữu cơ vào cốc 100ml. Phần cặn (than) được thêm vào 10ml hỗn hợp CH₂Cl₂ : CH₃COOC₂H₅ (7:3, v/v). Lắc phễu chiết trong vòng 3-5 phút để giải hấp acephate và methamidophos ra khỏi lớp than hoạt tính, ly tâm. Gộp toàn bộ pha hữu cơ vào cốc 100ml, thêm vào 5ml toluen, bay hơi dung môi trong chân không đến vừa khô, hòa tan cặn với 5ml acetone. Bơm 1μl vào máy GCMS, tính toán hàm lượng.

2.4.2. Phân tích trên GC-MS [2,3]

Mẫu thử và chuẩn được bơm vào hệ thống sắc ký khí GC-MS với cùng một lượng thể tích 1μl, ở cùng một điều kiện hoạt động thiết bị như đã nêu ở trên. Định lượng hàm lượng acephate và methamidophos có mặt trong mẫu thử nghiệm được tiến hành tự động theo phần mềm của máy, dựa vào các mảnh SIM định lượng và các mảnh SIM tham chiếu. Mỗi mẫu được tiến hành phân tích lặp lại 3 lần.

2.4.3. Thẩm định phương pháp

Độ thu hồi, độ lặp lại và giới hạn phát hiện của phương pháp được thực hiện với 7 lần phân tích lặp lại trên cùng một nền mẫu, với một lượng chuẩn cố định của các hoạt chất khảo sát được thêm vào nền mẫu.

Độ thu hồi được tính toán trên cơ sở lượng chuẩn được thêm vào nền mẫu (μ) và lượng chuẩn được tìm thấy (\bar{A}) khi sử dụng qui trình. Nền mẫu được lựa chọn, đã được kiểm tra không thấy xuất hiện bất kỳ mảnh phổ đặc trưng nào trên GC-MS.

$$\%R = \frac{\bar{A}}{\mu} \times 100\%$$

Độ lặp lại được đánh giá thông qua giá trị độ lệch chuẩn tương đối (RSD). Giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL) được thiết lập trên cơ sở độ lệch chuẩn của 7 lần thí nghiệm lặp lại và giá trị thống kê t_{student} một phía, với bậc tự do là n-1 và ở mức ý nghĩa 99%.

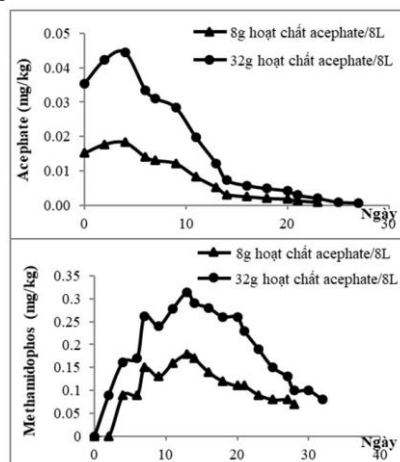
MDL = $t(n-1, 0.99) \cdot S$ (trong đó: t - giá trị student; S - độ lệch chuẩn của các lần phân tích lặp lại) [4]

Kết quả trong bảng 1 cho thấy phương pháp có độ thu hồi khá tốt. Giá trị RSD đạt yêu cầu khi so sánh với giá trị RSD_{Horwitz}. Theo qui ước, RSD_{PTN} ≤ 1/2RSD_{Horwitz}. RSD_{Horwitz} = $2^{1-0.5lgC}$ (trong đó C là nồng độ được biểu diễn ở dạng phân số) [6]

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hành vi của acephate và chuyển hóa chất methamidophos trong quả cà tím

Kết quả trên hình 2 có thể thấy hành vi của acephate trong quả cà tím được chia thành 3 vùng.



Hình 2. Hành vi của acephate và methamidophos trong cà tím theo nồng độ và ngày lấy mẫu sau khi phun

Vùng thứ nhất từ ngày lấy mẫu thứ 0 đến thứ 6 sau khi phun, trong vùng này cho thấy khuynh hướng hàm lượng acephate tăng lên ở cả 2 liều áp dụng; Vùng thứ hai từ ngày lấy mẫu 7 đến thứ 14 sau khi phun, bắt đầu có sự giảm mạnh hàm lượng acephate, kèm theo quá trình này hàm lượng methamidophos được hình thành và tăng dần và đạt cực điểm vào ngày thứ 13 sau khi phun ở cả hai liều áp dụng 8g và 32g hoạt chất acephate trong 8L nước (hình 2); Vùng thứ 3 từ ngày lấy mẫu thứ 15 trở đi, hàm lượng acephate vẫn tiếp tục giảm nhưng với tốc độ chậm.

Cũng trên hình 2 cho thấy hàm lượng methamidophos tăng nhanh trong vùng đầu và

diễn tiến nhanh hơn trong vùng tương ứng với hàm lượng acephate bị phân giải nhanh (ngày thứ 7 – 14 sau khi phun). Kết quả phân tích dư lượng cũng cho ta thấy khoảng 6,3 – 13,5% acephate bị phân hủy thành methamidophos.

Hàm lượng acephate tăng lên trong những ngày đầu áp dụng, cho thấy một diễn biến khá đặc trưng của acephate trên các loại quả. Thật vậy, một số công trình nghiên cứu của một số tác giả khác cũng cho thấy điều này. Soudamini Mohapatra và các cộng sự trong công trình nghiên cứu của họ về dư lượng của acephate và chuyển hóa chất methamidophos của nó trên vỏ và phần com của quả xoài [8] hoặc tác giả J. Sanz-Asensio và cộng sự khi nghiên cứu về hành vi của acephate và chuyển hóa chất methamidophos trên các mẫu táo [7]. Trong cả 2 công trình này, các tác giả đều tiến hành nghiên cứu tách biệt hành vi của acephate và methamidophos trên vỏ và phần com của quả. Theo đó, các tác giả đều đưa ra giả thiết về sự thâm thấu của acephate từ vỏ vào phần com của quả, mà đã dẫn đến hàm lượng acephate ở phần com của quả tăng lên trong những ngày đầu sau khi xử lý.

Trong công trình nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu trên toàn trái cà tím mà

không tách biệt phần vỏ và phần com. Nếu chấp nhận giả thiết về sự thâm thấu của acephate từ vỏ vào phần com của quả, thì sẽ xuất hiện thêm một giả thiết khác để lý giải về kết quả khi hàm lượng acephate tăng lên trong những ngày đầu sau khi xử lý với thuốc MONSTER 40EC ở cả 2 liều áp dụng 8g và 32g hoạt chất/8L nước. Thật vậy, MONSTER 40EC là thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ, có tác dụng tiếp xúc, vị độc và nội hấp mạnh. Theo cơ chế của những loại thuốc có tác động nội hấp (hay lưu dẫn), khi phun thuốc lên cây, thuốc có khả năng hấp thụ vào bên trong, dịch chuyển đến các bộ phận khác của cây, gây độc cho những loài sâu chích hút nhựa cây. Có lẽ do cơ chế của thuốc MONSTER 40EC, thêm vào đó trái cà tím đang trong giai đoạn phát triển mà dẫn đến trong kết quả sau khi xử lý với MONSTER 40EC, hàm lượng acephate đã tăng lên trong những ngày đầu sau xử lý.

Để thấy rõ hơn hành vi của acephate và methamidophos trong cà tím, chúng tôi tiến hành mô phỏng hành vi của chúng bằng những phương trình toán học với việc xem hàm lượng của chúng trong quả cà tím như là một hàm theo thời gian. Kết quả mô phỏng được chỉ ra trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả thẩm định phương pháp và mô phỏng hành vi của acephate và methamidophos trong quả cà tím

Hoạt chất	Độ thu hồi (%)	RSD (%)	MDL (mg/kg)
Methamidophos	84,9	8,3	0,070
Acephate	85,0	9,9	0,080
Liều lượng áp dụng: 8g hoạt chất acephate /8L nước			
Acephate		Methamidophos	
$Y = 1,926t^{0,55}e^{-0,21t}$		$Y = -0,0007t^2 + 0,0197t + 0,016e^{-0,134t}$	
Liều lượng áp dụng: 32g hoạt chất acephate /8L nước			
Acephate		Methamidophos	
$Y = 4,029t^{0,676}e^{-0,228t}$		$Y = -0,0008t^2 + 0,027t + 0,036e^{-0,134t}$	

Bảng 2. Kết quả tính toán thời gian bán hủy của acephate và methamidophos trong quả cà tím

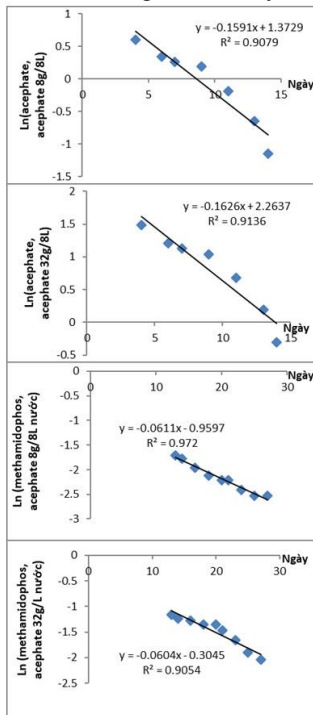
Hoạt chất	T _{1/2} (ngày)	Giá trị trung bình T _{1/2} (ngày)
Acephate (8g hoạt chất acephate/8L nước)	4,355751	4,3
Acephate (32g hoạt chất acephate/8L nước)	4,261993	
Methamidophos (8g hoạt chất acephate/8L nước)	11,34206	11,4
Methamidophos (32g hoạt chất acephate/8L nước)	11,47351	

3.2. Sự phân hủy của acephate và methamidophos trong quả cà tím

Ngoài việc mô phỏng hành vi của acephate và chuyển hóa chất methamidophos của nó trong cà tím theo hàm thời gian, chúng tôi tiến hành xác định thời gian bán hủy ($T_{1/2}$) của acephate và methamidophos.

Kết quả nhận được trên hình 3 với các phương trình tuyến tính tương ứng, chúng tôi tính được thời gian bán hủy của acephate và methamidophos. Kết quả tính toán được chỉ ra trong bảng 2.

Kết quả tính toán thời gian bán hủy của acephate theo những khảo sát của chúng tôi lớn hơn so với quảng cáo của nhà sản xuất (thời gian bán phân hủy của acephate chỉ có 3 ngày). Sự khác nhau về thời gian cách ly có khả năng do các điều kiện môi trường khi tiến hành thí nghiệm khác nhau và thiết bị phân tích cũng khác nhau, do đó đã ảnh hưởng phần nào đến kết quả tính toán thời gian bán hủy.



Hình 3. Ln nồng độ acephate và methamidophos theo thời gian - 8g acephate/8L nước và 32g acephate/8L nước

4. KẾT LUẬN

Methamidophos đã được hình thành trong quá trình phân giải acephate. Khoảng 6,3 – 13,5% acephate bị phân hủy thành methamidophos. Thời gian bán hủy của acephate và methamidophos tương ứng là 4,3 ngày và 11,4 ngày. Việc kết hợp thời gian bán hủy và phương trình mô phỏng hành vi của acephate

và methamidophos trong quả cà tím sẽ làm cơ sở cho các nhà quản lý, sản xuất và chế biến sản phẩm nông nghiệp kiểm soát và sử dụng hợp lý các loại thuốc có chứa hoạt chất acephate trong quá trình bảo vệ hoa màu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Mạnh Chinh. Cẩm nang thuốc bảo vệ thực vật. Nhà xuất bản Nông nghiệp, 2012.
2. Nguyễn Tiến Đạt, Lê Tất Mua, Nguyễn Ngọc Tuấn, Hồ Văn Quốc, Huỳnh Thiên Diễm. Phân tích dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật acetamiprid, thiamethoxam và chlorfenapyr trong mẫu lá chè bằng phương pháp sắc kí khối phổ - GC/MS. Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học, tập 16, số 3/2011.
3. Nguyễn Ngọc Tuấn, Lê Tất Mua, Nguyễn Tiến Đạt, Phạm Thị Lan Phi. Nghiên cứu phương pháp chiết pha rắn với hỗn hợp chất hấp phụ than hoạt tính và silica gel để tách và làm giàu dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật trong các loại rau và phân tích bằng phương pháp sắc kí khí. Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học, tập 13, số 3/2010.
4. Analytical detection limit guidance & Laboratory guide for determination method detection limits. Wisconsin Department of Natural Resources Laboratory Certification Program. April PUBL-TS-056-96 (1996).
5. Elizabeth Downing. Environmental Fate of Acephate; California Department of Pesticide Regulation, Environmental Monitoring and Pest Management: Sacramento, CA, 95814-3510; p 6.
6. James N. Miler and Jane C. Miler. Statistic and chemometrics for analytical chemistry. Pearson Education Limited, England, Fifth edition 2005, page 90-93.
7. J. Sanz-Asensio, A. P. Martínez-Prado, M. Plaza-Medina, M. T. Martínez-Soria & M. Pérez-Clavijo (1999), *Chromatographia*, 49, 155–160.
8. Soudamini Mohapatra, A. K. Ahuja, M. Deepa & Debi Sharma (2011). Residues of Acephate and its Metabolite Methamidophos in/on Mango Fruit (*Mangifera indica* L.), *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86, 101–104.
- Zhiqiang Kong, Fengshou Dong, Jun Xu, Xingang Liu, Jing Li, Yuanbo Li, Yingying Tian, Liqun Guo, Weili Shan, Yongquan Zheng (2012). Degradation of acephate and its metabolite methamidophos in rice during processing and storage, *Food Control*, 23, 149–153.