

## XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT DIAZINON BẰNG KỸ THUẬT STRIPPING SÓNG VUÔNG HẤP PHỤ VỚI ĐIỆN CỰC THỦY NGÂN GIỌT RƠI.

Nguyễn Đình Thị Như Hiền<sup>(1)</sup>, Trần Bích Lam<sup>(1)</sup>, Nguyễn Trọng Giao<sup>(2)</sup>

(1) Trường Đại học Bách Khoa, ĐHQG-HCM

(2) Trung tâm Nhiệt đới Việt-Nga, chi nhánh phía Nam.

**TÓM TẮT:** Phương pháp xác định dư lượng thuốc bảo vệ thực vật Diazinon (DI) bằng kỹ thuật stripping sóng vuông hấp phụ quét nhanh trên cực giọt rơi (AdSWSV) đã được thiết lập. Diazinon hấp phụ ở điện cực thủy ngân giọt rơi (DME), sóng phổ thu được ở giá trị điện thế  $-1012$  mV so với điện cực Ag/AgCl/KCl trong dung dịch nền amoni acetat  $0,4$  N pH  $4,3$ . Cường độ dòng điện tương ứng với sóng phổ thu được đạt tuyến tính trong khoảng nồng độ  $800 - 3200$  ppb. Giới hạn phát hiện là  $16,49$  ppb. Ảnh hưởng của một số loại thuốc trừ sâu khác thường được dùng cùng với DI cũng được nghiên cứu. Phương pháp này được sử dụng để phân tích dư lượng DI trong lá artichoke tươi. Độ thu hồi của Diazinon từ lá artichoke tươi nằm trong khoảng  $90,31 - 93,55\%$ . Giới hạn phát hiện trên nền dịch chiết lá artichoke đạt  $29,82$  ppb. Phương pháp có độ lặp lại và tính chọn lọc cao.

**Từ khóa** Thuốc bảo vệ thực vật. Diazinon. Kỹ thuật stripping sóng vuông hấp phụ quét nhanh trên cực giọt rơi (AdSWSV). DME.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ:

Diazinon (O,O-diethyl O-2-isopropyl-6-methylpyrimidin-4-yl phosphorothioate,  $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$ ), là thuốc bảo vệ thực vật gốc lân hữu cơ được sử dụng rộng rãi trong nông nghiệp, bao gồm cả thảo dược. Diazinon gây độc cho hệ thần kinh do ức chế enzyme acetylcholine esterase, vốn điều hòa quá trình truyền xung thần kinh [1] nên dư lượng chất này trong các loại thảo dược rất được quan tâm. Cho tới nay, kỹ thuật chủ yếu được sử dụng để xác định dư lượng Diazinon trong thảo dược và rau quả là sắc ký khí (GC) với đầu dò thích hợp [1 – 6]. Kỹ thuật cực phổ dùng điện cực carbon nanotube paste đã được sử dụng để xác định dư lượng Diazinon trong nước chiết dưa leo và những tế bào não của cá chép [7], hay kỹ thuật cực phổ dùng điện cực Nafion®-coated glassy carbon để xác định dư lượng Diazinon trong mẫu nước hồ cũng đã được sử dụng [8]. Cực phổ là phương pháp chính thức dùng để xác định dư lượng Diazinon quy định trong AOAC 1998, 970.53 [9].

Mục đích của nghiên cứu này là phát triển một phương pháp phân tích điện hóa nhằm xác định dư lượng của Diazinon trong lá artichoke tươi dùng kỹ thuật stripping sóng vuông hấp phụ quét nhanh trên cực giọt rơi.

### 2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

#### 2.1. Thiết bị

Sóng phổ được ghi nhận bằng máy phân tích nhanh Analyzer SQF 505 multimode. Ba điện cực bao gồm điện cực so sánh Ag/AgCl/KCl bão hòa có thể không đổi, điện cực hỗ trợ Pt, điện cực làm việc giọt rơi thủy ngân (DME) có thời gian rơi của giọt  $11 - 14$  giây.

#### 2.2. Hóa chất

Tất cả hóa chất được sử dụng là hóa chất phân tích. Diazinon chuẩn  $98,3\%$  w/w, do công ty Fluka (Tây Ban Nha) cung cấp. Dung dịch Diazinon gốc  $1000$  ppm được pha trong petroleum ether và được bảo quản trong bình màu nâu trong tủ lạnh. Dãy dung dịch chuẩn của Diazinon được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch gốc với petroleum ether. Chlorpyrifos ( $99,9\%$ , w/w) và Cypermethrin ( $95,1\%$ , w/w) do công ty Fluka cung cấp. Các dung dịch  $1000$  ppm của

Chlorpyrifos và Cypermethrin được pha trong ethanol. Dung dịch nền amoni acetat được điều chỉnh pH 2,1 – 9,0 bằng acid acetic hay dung dịch natri hydroxid 0,2 N.

### 2.3. Phương pháp

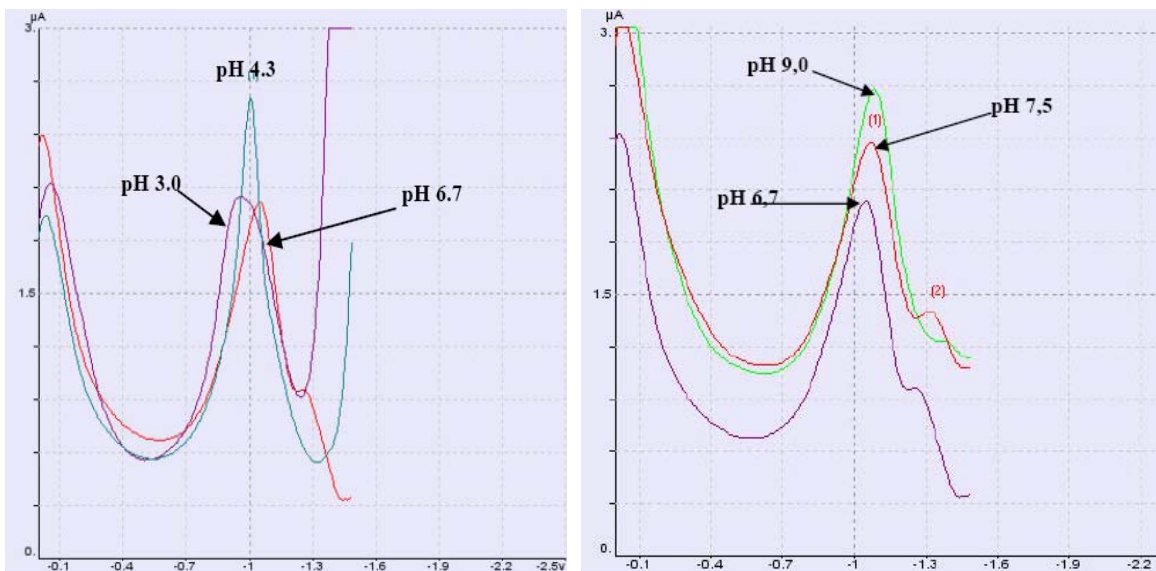
Ghi phổ sóng vuông của dung dịch nền (25mL), hỗn hợp dung dịch nền amoni acetat và 100  $\mu$ l dung dịch Diazinon hoặc 100  $\mu$ l dịch chiết từ lá artichoke. Đối với dịch chiết lá artichoke, phổ phải được ghi bằng phương pháp thêm chuẩn.

Nghiên cứu ảnh hưởng của pH và nồng độ chất nền trong dung dịch nền được tiến hành dùng mode đo SQW-F; thông số chạy máy và các đường chuẩn (có hay không có dịch chiết lá artichoke) được xác định bằng kỹ thuật stripping sóng vuông hấp phụ quét nhanh trên cực giọt rơi (mode đo PSA-F). Đường chuẩn khi có dịch chiết lá artichoke được thiết lập bằng phương pháp thêm chuẩn.

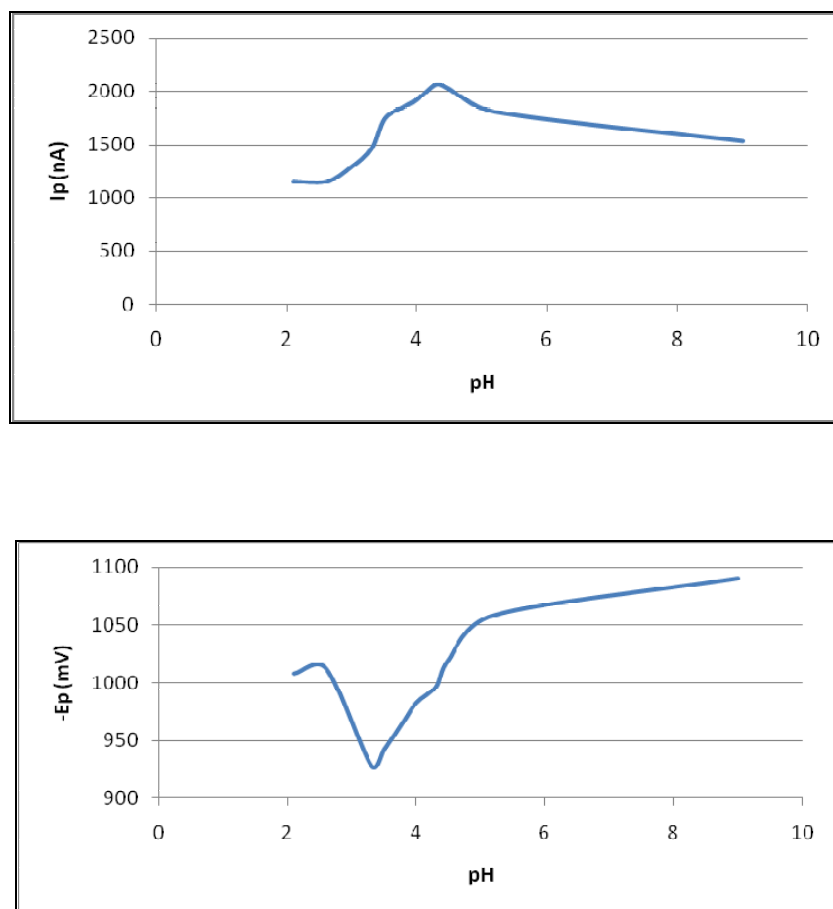
## 3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### 3.1 Ảnh hưởng của pH

pH ảnh hưởng mạnh lên cả cường độ dòng điện  $I_p$  và sự dịch chuyển của thế đỉnh  $E_p$  (Hình 1). Giá trị pH được khảo sát trong khoảng 2,1 – 9,0. Trong môi trường acid mạnh (2,0 – 3,0), Diazinon không cho sóng phổ rõ. Tại pH khoảng 3,3, xuất hiện sóng phổ rõ và di chuyển về những giá trị thế âm hơn khi pH tăng lên. Trong môi trường kiềm, pH > 6,7, peak bị tách ra thành hai peak nhỏ nằm kế nhau.



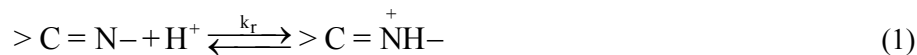
Thế đỉnh,  $E_p$  (so với điện cực Ag/AgCl/KCl)



**Hình 1.** Ảnh hưởng của pH trên sóng phổ của DI trong dung dịch nền amoni acetat 0,1 N, biên độ xung 30 mV, bước thế 8 mV, thời điểm bắt đầu quét thế 4 giây.

Sóng phổ thay đổi nhiều trong dung dịch nền có tính acid mạnh ( $\text{pH} < 3,0$ ) là do sự giải phóng hydro mạnh và do đó phổ của DI bị chồng lấp bởi phổ của hydro. Có sự thay đổi đáng kể  $I_p$  và  $E_p$  ở pH 3,3. Theo [10], giá trị hằng số phân ly  $\text{pK}_a$  của Diazinon được ghi nhận là 2,6. Điều này cho thấy tốc độ của quá trình cộng proton trước phản ứng điện hóa xảy ra rất nhanh. Theo [10], ở giá trị pH thấp hơn 3,3 số lượng electron trao đổi là hai electron, còn ở những giá trị pH lớn hơn 3,3 số lượng hạt mang điện trao đổi là lớn hơn hai do có sự tham gia của proton. Tương tự những loại thuốc trừ sâu gốc lân hữu cơ khác, sóng phổ là do quá trình khử nhóm azomethine ( $\text{C}=\text{N}$ ) của vòng pyridine thông qua bước  $2\text{H}^+/2\text{e}^-$ .

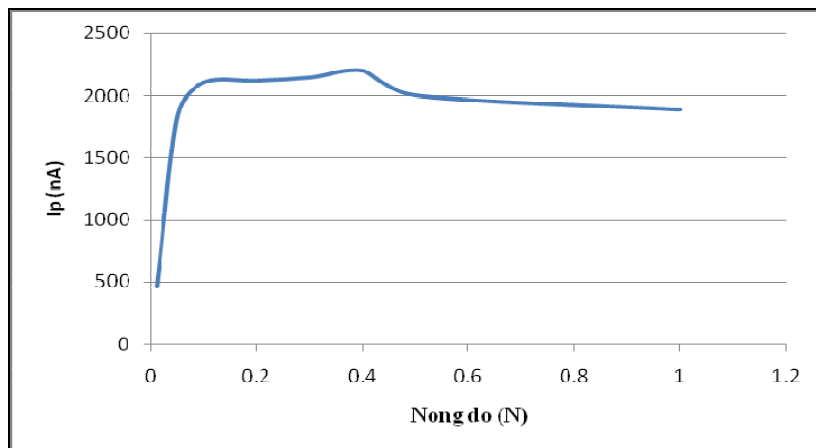
Trong khoảng  $\text{pH} > 3,3$ , thế đỉnh của sóng phổ dịch chuyển về những giá trị âm hơn khi pH tăng lên. Sự dịch chuyển này cho thấy có sự chuyển proton trước khi đạt thế đỉnh [11]. Giá trị  $\Delta E_p/\Delta \text{pH}$  trong khoảng pH 3,3 – 4,5 là khoảng 73 mV/pH cho thấy quá trình khử của DI có sự tham gia của thành phần được proton hóa



Sóng phổ nhọn và rõ nhất được ghi nhận ở pH 4,3. Trong những khảo sát tiếp theo, giá trị pH của dung dịch nền được điều chỉnh ở pH 4,3.

### 3.2. Ảnh hưởng của nồng độ chất nền

Ảnh hưởng của nồng độ amoni acetat trong dung dịch nền lên cường độ dòng điện  $I_p$  được khảo sát trong khoảng nồng độ 0,01 – 1,0 N ở pH 4,3. Kết quả cho thấy với dung dịch nền amoni acetat 0,4 N pH 4,3 cường độ dòng điện của sóng phổ Diazinon là cao nhất (Hình 2).



**Hình 2.** Ảnh hưởng của nồng độ amoni acetat trên sóng phổ của DI; biên độ xung 30 mV, bước thế 8 mV, thời điểm bắt đầu quét thế 4 giây.

### 3.3. Lựa chọn thông số máy

Sử dụng dung dịch nền đã khảo sát, ảnh hưởng của biên độ xung ( $V_{pulse}$ ), bước thế ( $V_{step}$ ), và thời điểm bắt đầu quét thế trong đời sóng một giọt ( $T_{drop}$ ) trên sóng phổ của DI được khảo sát. Kết quả cho thấy  $V_{pulse}$  40 mV,  $V_{step}$  10 mV và  $T_{drop}$  5 giây cho sóng phổ cao và nhọn nhất.

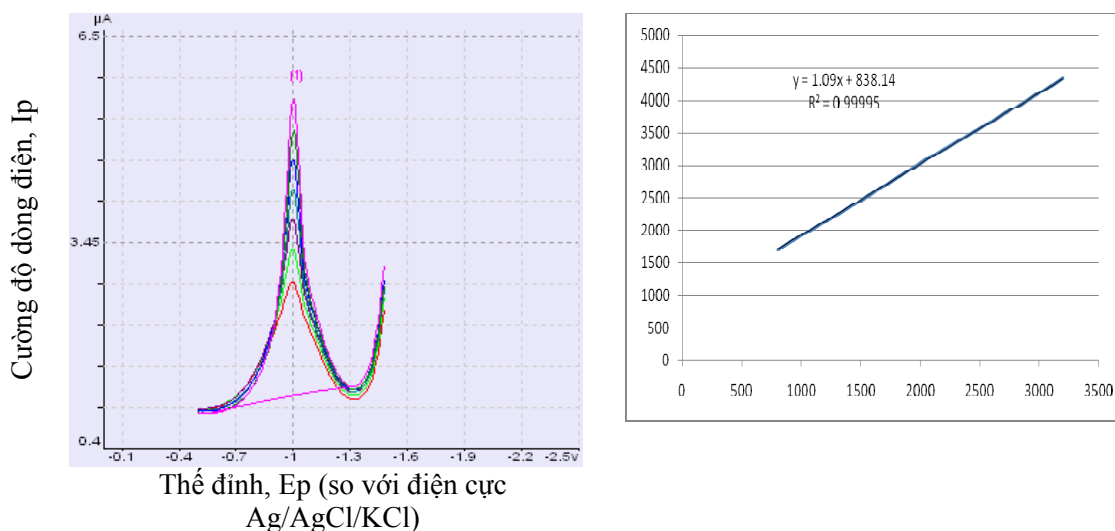
Sự hấp phụ của DI ở điện cực DME được khảo sát bằng kỹ thuật stripping sóng vuông hấp phụ quét nhanh trên cực giọt rơi AdSWSV. Theo những cơ chế hấp phụ đã biết của những hợp chất chứa lưu huỳnh ở điện cực thủy ngân, quá trình khử điện hóa của DI theo phản ứng sau [12]:



Thay đổi thế điện phân tích góp ( $V_e$ ) và thời gian điện phân tích góp ( $T_e$ ), kết quả cho thấy thời gian điện phân tích góp 6 giây và thế điện phân tích góp -500 mV cho sóng phổ cao và nhọn nhất.

### 3.4. Phân tích định lượng DI dùng kỹ thuật AdSWSV

Trong những điều kiện đã xác định, tiến hành ghi phổ cho khoảng nồng độ 200 – 4000 ppb của DI trong cốc đo. Trong khoảng nồng độ 800 – 3200 ppb, cường độ dòng điện thu được là tuyến tính với nồng độ DI trong cốc. Phương trình tuyến tính  $I = 1,09 \times C + 838,14$ ; trong đó  $I$  có đơn vị là nA và  $C$  có đơn vị là ppb. Hệ số hồi quy thu được là 0,99995 (Hình 3).



**Hình 3.** Đường chuẩn của DI ghi trong điều kiện đã xác định (AdSWSV, dung dịch nền amoni acetat 0,4 N pH 4,3,  $V_{\text{pulse}}$  40 mV,  $V_{\text{step}}$  10 mV,  $T_{\text{drop}}$  5 giây,  $T_c$  6 giây và  $V_c$  -500 mV).

Độ chính xác của phương pháp được thể hiện qua giá trị hệ số hồi quy bằng 0,99995. Giới hạn phát hiện LoD trong điều kiện đã xác định là 16,49 ppb. Giới hạn định lượng LoQ đạt 49,97 ppb. Mặc dù các giá trị giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng đều nằm ngoài khoảng tuyến tính nhưng DI vẫn có thể được định lượng bằng cách sử dụng đường chuẩn và phương pháp thêm chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của cường độ dòng biến đổi trong khoảng 0,27 – 0,87% (5 lần đo cho mỗi giá trị nồng độ DI trong khoảng 800 – 3200 ppb).

### 3.5. Ứng dụng kỹ thuật AdSWSV để xác định dư lượng Diazinon trong lá artichoke tươi

Kỹ thuật AdSWSV được ứng dụng để xác định dư lượng DI trong lá artichoke tươi. Lá artichoke được trồng theo tiêu chuẩn GAP do công ty Cổ phần Y Dược phẩm Vimedimex cung cấp.

**Quy trình chiết Diazinon:** Nghiền nhỏ lá artichoke tươi, cân chính xác khoảng 20 g lá đã nghiền nhỏ cho vào bình nón 500 ml. Thêm 60 ml acetonitril, lắc đều. Tiến hành siêu âm trong 30 phút trong bể siêu âm (Neytech 57H). Lọc thu lấy dung dịch. Lắc dịch lọc thu được 3 lần, mỗi lần với 30 ml n-hexane. Tách lấy lớp n-hexane (lớp trên). Sau đó sục khí nitơ dung dịch thu được để đuổi dung môi cho tới khi thể tích còn 1 ml. Dùng dung dịch này làm dung dịch xác định DI.

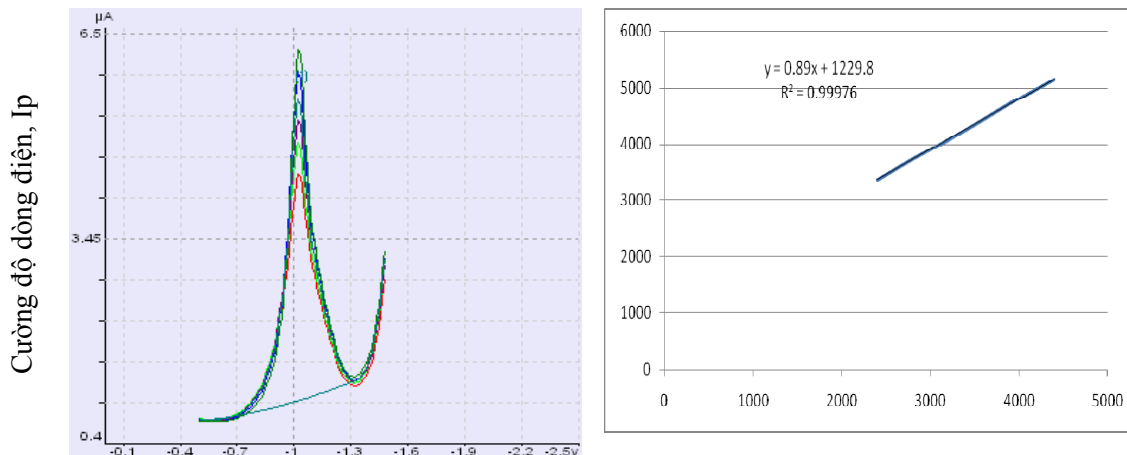
**Xác định hiệu suất thu hồi Diazinon:** Chuẩn bị 5 mẫu lá artichoke tươi, mỗi mẫu 20 g. Bổ sung Diazinon chuẩn vào mẫu sao cho hàm lượng trong mẫu là 0,5 ppm. Tiến hành chiết mẫu theo quy trình ở trên và xác định phổ bằng phương pháp thêm chuẩn. Tiến hành tương tự cho những giá trị hàm lượng 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; 2,5 ppm.

**Bảng 1.** Độ thu hồi của DI từ lá artichoke tươi

Stt	Hàm lượng (ppm)	Hiệu suất thu hồi trung bình (%)	RSD (%)
1	0,5	93,55	3,64
2	1,0	90,31	4,23
3	1,5	91,11	2,76
4	2,0	92,21	3,56
5	2,5	91,18	3,91

Hiệu suất thu hồi của Diazinon nằm trong khoảng 90,31 – 93,55%.

Đường chuẩn của DI khi có dịch chiết artichoke được ghi nhận trong điều kiện tối ưu (AdSWSV, dung dịch nền amoni acetat 0,4 N pH 4,3,  $V_{\text{pulse}}$  40 mV,  $V_{\text{step}}$  10 mV,  $T_{\text{drop}}$  5 giây,  $T_e$  6 giây và  $V_e$  -500 mV) bằng phương pháp thêm chuẩn.



Thế đỉnh,  $E_p$  (so với điện cực Ag/AgCl/KCl)

**Hình 4.** Đường chuẩn của DI ghi nhận khi có bổ sung dịch chiết lá artichoke (AdSWSV, dung dịch nền amoni acetat 0,4 N pH 4,3,  $V_{\text{pulse}}$  40 mV,  $V_{\text{step}}$  10 mV,  $T_{\text{drop}}$  5 giây,  $T_e$  6 giây và  $V_e$  -500 mV).

Cường độ dòng đạt tuyến tính trong khoảng nồng độ 2400 – 4400 ppb. Phương trình tuyến tính  $I = 0,89 \times C + 1229,8$ ; trong đó  $I$  tính bằng đơn vị nA và  $C$  tính bằng đơn vị ppb. Hệ số hồi quy ( $r^2$ ) = 0,99976 (Hình 4). Giới hạn phát hiện đạt LoD đạt 29,82 ppb. Giới hạn định lượng LoQ đạt 90,36 ppb. Tuy các giá trị giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng đều nằm ngoài khoảng tuyến tính nhưng DI vẫn có thể được định lượng trong artichoke bằng cách sử dụng đường chuẩn và phương pháp thêm chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của cường độ dòng biến đổi trong khoảng 0,32 – 0,61% (5 lần đo cho mỗi giá trị nồng độ DI trong khoảng 2400 – 4400 ppb).

### 3.6. Ảnh hưởng của Chlorpyrifos và Cypermethrin trên phổ AdSWSV của Diazinon

Chlorpyrifos và Cypermethrin là hai loại thuốc trừ sâu thường được sử dụng cho thảo dược và rau quả, có thể gây ảnh hưởng lên phổ AdSWSV của Diazinon. Trong điều kiện đã xác định, ở nồng độ lớn hơn 640 ppb, Chlorpyrifos làm thay đổi giá trị cường độ dòng và hình dáng của peak DI rất nhiều. Tuy nhiên, ở khoảng nồng độ thấp hơn 640 ppb, Chlorpyrifos không gây ảnh hưởng lên độ thu hồi của Diazinon từ lá artichoke tươi cũng như sóng phổ của Diazinon.

Cypermethrin không bị khử trong điều kiện đã cho, chất này không gây ảnh hưởng gì lên cường độ dòng và hình dạng sóng của Diazinon.

## 4. KẾT LUẬN

Diazinon có thể được xác định bằng kỹ thuật stripping sóng vuông hấp phụ quét nhanh trên cực giọt rơi. Dung dịch nền sử dụng là amoni acetat 0,4 N pH 4,3; biên độ xung 40 mV, bước thế 10 mV, thời điểm bắt đầu quét thế trong đời sống một giọt 5 giây, thời gian điện phân tích góp 6 giây và thế điện phân tích góp -500 mV. Bằng phương pháp nội chuẩn và ngoại chuẩn đã thiết lập quy trình xác định dư lượng Diazinon trong lá artichoke tươi. Hiệu suất thu hồi Diazinon từ lá artichoke tươi nằm trong khoảng 90,31 – 93,55%. Giới hạn phát hiện đạt 29,82 ppb. Phương pháp có tính chọn lọc và độ nhạy cao. Sự hiện diện của Chlorpyrifos ở nồng độ cao có thể làm thay đổi giá trị cường độ dòng và hình dáng của peak Diazinon, tuy nhiên, ở nồng độ dưới 640 ppb, Chlorpyrifos không gây ảnh hưởng lên độ thu hồi của Diazinon từ lá artichoke tươi cũng như sóng phổ của Diazinon. Riêng Cypermethrin không có ảnh hưởng lên cường độ dòng và hình dạng sóng của Diazinon.

## DETERMINATION OF PESTICIDE DIAZINON BY ADSORPTIVE SQUARE-WAVE STRIPPING VOLTAMMETRY WITH DROPPING MERCURY ELECTRODE

Nguyen Dinh Thi Nhu Hien<sup>(1)</sup>, Tran Bich Lam<sup>(1)</sup>, Nguyen Trong Giao<sup>(2)</sup>

(1)University of Technology, VNU\_HCM

(2)Russian-Vietnamese Tropical Centre, Southern Branch.

**ABSTRACT:** A method for trace determination of the pesticide Diazinon using adsorptive square-wave stripping voltammetry (AdSWSV) at the dropping mercury electrode (DME) was described. The pesticide was accumulated at the DME and a well-defined stripping peak was obtained at -1012 mV vs Ag/AgCl/KCl electrode in 0.4 N ammonium acetate electrolyte solution pH 4.3. Peak current was linear over Diazinon concentration range of 800 – 3200 ppb. Detection limit was 16.49 ppb. Effects of some other pesticides (Chlorpyrifos and Cypermethrin) on Diazinon peak and the recovery of Diazinon from artichoke leaves were studied. The method was extended to the determination of Diazinon in artichoke leaves. The recovery of Diazinon from artichoke leaves was 90.31 – 93.55%. Detection limit was 29.82 ppb. Method had high repeatability and selectivity.

**Key words** Pesticides. Diazinon. Adsorptive square-wave stripping voltammetry (AdSWSV). DME.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. U. S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. (2008). Toxicological profile for Diazinon. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Georgia, USA.
- [2]. United States Pharmacopeial Convention, Inc–Committee of Revision. (2007). Article <561> Articles of Botanical Origin. In: *USP 30–NF25. The United States Pharmacopeia–The National Formulary*. United States Pharmacopeial Convention, Inc.–Board of Trustees, Washington, D.C.
- [3]. Lal, G. Tan, M. Chai. (2008). ‘Multiresidue analysis of pesticides in fruits and vegetables using solid-phase extraction and gas chromatographic methods’. *Analytical Sciences*, Vol. 24, 231–236.
- [4]. M. Kin, T. G. Huat, A. Kumari. (2006). ‘Method development for the determination of pesticide residues in vegetables and fruits by using solid-phase microextraction’. *Malaysian Journal of Chemistry*, Vol. 8, No. 1, 067–071.
- [5]. G. H. Tan, N. N. Tang. (2005). ‘Determination of organophosphorous pesticide residues in selected fruits by gas chromatography-mass spectrometry’. *Malaysian Journal of Chemistry*, Vol. 7, No. 1, 049–056.
- [6]. S. W. Husain, V. Kiarostami, M. Morrovati, M. R. Tagebakhsh. (2003). ‘Multiresidue determination of Diazinon and Ethion in Pistachio nuts by use of matrix solid phase dispersion with a lanthanum silicate co-column and gas chromatography’. *Acta Chromatographica*, No. 13, 208–214.
- [7]. S. Y. Ly. (2008). ‘Assay of diazinon pesticides in cucumber juice and in the deep brain cells of a live carp’. *Microchim Acta*, 163: 283–288.
- [8]. G. Erdogdu. (2003). ‘A sensitive voltammetric method for the determination of Diazinon insecticide’. *Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 58, No. 6, 569–572.

- [9]. AOAC Official Method, 1998, 970.53. Organophosphorus Pesticide Residues (Single Sweep Oscillographic Polarographic Confirmatory Method).
- [10]. R. C. Martínez, F. B. Domínguez, J. H. Méndez, P. G. Martín. (1990). 'Electroanalytical determination of Diazinon: Direct current and differential pulse polarography and adsorptive stripping voltammetry'. *Electroanalysis*, 2, 567–571.
- [11]. P. Zuman, L. Meites. (eds) (1972). *Progress in polarography*. Wiley-Interscience, America.
- [12]. M. S. El-Shahawi, M. M. Kamal. (1998). 'Determination of the pesticide Chlorpyrifos by cathodic adsorptive stripping voltammetry'. *Fresenius J Anal Chem*, 362 : 344–347 – © Springer-Verlag 1998.