

УДК 543.432

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ ЭКСТРАКЦИИ АСТРАФЛОКСИНОМ

© 2020 г. Ж. А. Кормош^a, Е. С. Журба^a, И. П. Антал^a, А. Ж. Кормош^a, Я. Р. Базель^{b, c, *}

^aВосточноевропейский национальный университет им. Леси Украинки
просп. Воли, 13, Луцк, 43000 Украина

^bУниверситет Павла Йозефа Шафарика
ул. Мойзесова, 11, Кошице, SK 04154 Словакия

^cУжгородский национальный университет
ул. Пидгирна, 46, Ужгород, 88 000 Украина

*e-mail: yaroslav.bazel@upjs.sk

Поступила в редакцию 03.05.2019 г.

После доработки 25.06.2019 г.

Принята к публикации 20.01.2020 г.

Показана возможность спектрофотометрического определения 2,4-дихлор-феноксиуксусной кислоты на основе экстракции толуолом ионного ассоциата (ИА) с полиметиновым красителем астрафлосином FF. Максимальное извлечение ИА из водной фазы достигается при pH 6–11 и концентрации красителя $(1.6–2.8) \times 10^{-4}$ М. Условный молярный коэффициент поглощения ИА составляет 4.0×10^4 , предел обнаружения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты – 0.9 мкг/мл. Разработанная методика экстракционно-спектрофотометрического определения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты использована для анализа вод и гербицидов.

Ключевые слова: 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, спектрофотометрическое определение, астрафлосин FF.

DOI: 10.31857/S0044450220070117

2,4-Дихлорфеноксиуксусная кислота ($C_8H_6Cl_2O_3$, 2,4-Д) принадлежит к широкому классу гербицидов на основе хлорфеноксиалканкарбоновых кислот. 2,4-Д преимущественно используется в качестве селективного гербицида против двудольных широколистных сорняков на посевах зерновых, насаждениях плодовых деревьев, лугах и газонах. Вещество вызывает изменения со стороны кожи и слизистых оболочек и может быть причиной сильных отравлений. Международное агентство по исследованию рака в 2015 г. классифицировало гербицид 2,4-Д как “возможно канцерогенный” (группа 2В), что ставит это соединение в категорию риска для живых организмов [1, 2]. Предельно допустимая концентрация 2,4-Д в природной воде составляет 1 мг/л. В связи с этим разработаны рекомендации по контролю остаточных концентраций 2,4-Д в объектах окружающей среды [3].

На сегодня наиболее распространенными способами определения 2,4-Д являются методики ВЭЖХ в сочетании с масс- или УФ-детектором [3–11]. Применяют также электрохимические [12–15], спектрофлуориметрические [16–18], им-

муноферментные [19, 20] методы. Применение спектрофотометрических методик [21–23] предусматривает проведение довольно сложных предварительных процедур отделения и/или концентрирования 2,4-Д.

Цель данной работы – разработка новой высокочувствительной методики экстракционно-спектрофотометрического определения 2,4-Д с использованием полиметинового красителя астрафлосина FF.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты и материалы. Исходный 0.01 М стандартный раствор 2,4-Д готовили растворением точной навески коммерческого препарата в 0.1 М растворе NaOH. Рабочие 1×10^{-4} – 1×10^{-3} М растворы готовили последовательным разбавлением исходного бидистиллированной водой в день эксперимента. Водный 1×10^{-3} М раствор астрафлосина FF (Jiacheng-Chem Enterprises Ltd., China) готовили растворением точной навески препарата в бидистиллированной воде. Кислотность среды регулировали добавлением ацетатно-

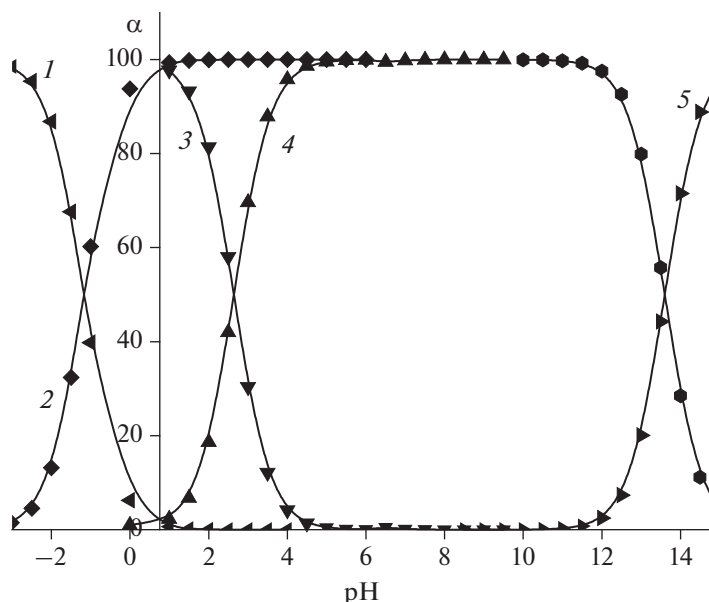


Рис. 1. Диаграмма выхода форм астрафлоксина FF (1 – RH^{2+} , 2 – R^+ , 5 – RON) и 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (3 – 2,4-Д; 4 – 2,4-Д $^-$).

аммиачного буферного раствора, H_2SO_4 или раствора NaOH .

Аппаратура. Спектрофотометрические измерения проводили на спектрофотометре СФ-2000 (ЛОМО, Россия) в кварцевых кюветках. pH растворов контролировали потенциометрически иономером АИ-123 (MLsoft Instruments, Украина) со стеклянным электродом.

Методика эксперимента. Ионный ассоциат 2,4-Д с астрафлоксином FF (АФ) экстрагировали при комнатной температуре (18–20°C) в пробирках с притертыми пробками. Для этого в пробирки вводили исследуемый раствор, содержащий 5–200 мкг 2,4-Д, добавляли 0.5 мл буферного раствора с pH 8.5, 0.8 мл 1×10^{-3} М раствора АФ, 2 мл 2 М раствора Na_2SO_4 и разбавляли водную фазу до 5 мл водой. Вводили 5 мл толуола и экстрагировали в течение 1 мин. Параллельно проводили контрольный опыт. После разделения фаз экстракты отделяли, центрифугировали и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре в кварцевых кюветках ($l = 0.5$ см) при длине волны 546 нм относительно дистиллированной воды.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимальные условия экстракции. 2,4-Д является одноосновной кислотой умеренной силы ($pK = 2.64$) [24]. В зависимости от кислотности среды АФ может находиться в трех формах – однозарядной ионной (R^+), протонированной (RH^{2+}) и „гидролизованной“ (RON). Соответствующие константы протолиза АФ составляют:

$pK_1 = -1.18$ (константа протонирования) и $pK_2 = 13.6$ (константа гидролиза) [25]. Краситель АФ в широком интервале pH в водных растворах доминирует в виде однозарядной ионной формы, которая характеризуется весьма интенсивной окраской: молярный коэффициент светопоглощения при 540 нм составляет 1.4×10^5 . Максимумы светопоглощения протонированной и гидролизованной форм АФ сдвинуты в коротковолновую область и характеризуются низкой интенсивностью. Приведенные значения констант протолиза позволяют рассчитать диаграммы выхода различных форм данных веществ и прогнозировать вероятный интервал pH образования ионного ассоциата 2,4-Д с АФ (рис. 1).

Результаты экспериментального исследования влияния pH водной фазы на экстракцию толуолом ИА 2,4-Д с АФ приведены на рис. 2. Диапазон pH максимальной экстракции ИА составляет 6–11. Это достаточно хорошо согласуется с данными, полученными путем расчета диаграмм распределения соответствующих форм красителя и 2,4-Д (рис. 1).

Изучено влияние концентрации красителя на оптическую плотность толуольных экстрактов ионных ассоциатов 2,4-Д с АФ. Экстракция 2,4-Д достигает максимального значения при концентрации АФ 1.6×10^{-4} М, после чего оптическая плотность экстрактов практически не изменяется (избыток красителя остается в водной фазе). Равновесие экстракции достигается за 50–60 с.

Ионные ассоциаты достаточно хорошо экстрагируются различными ароматическими углево-

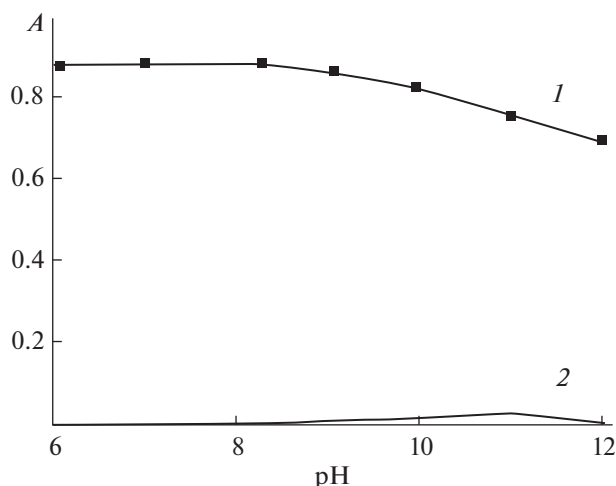


Рис. 2. Влияние pH раствора на образование и экстракцию толуолом ионного ассоциата 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты с астрафлксином FF. 1 – 4×10^{-5} М 2,4-Д, 1×10^{-4} М АФ; 2 – раствор сравнения.

дородами. Учитывая высокую токсичность и канцерогенность бензола, лучшими признаны *o*-ксилол и толуол (табл. 1). В дальнейшем использовали толуол, так как при этом светопоглощение экстракта контрольного опыта минимально.

Стехиометрию ИА 2,4-Д с АФ исследовали спектрофотометрически методами изомолярных серий и сдвига равновесия; соотношение компонентов составляет 1 : 1. Схему образования и экстракции ИА можно представить в общем виде:

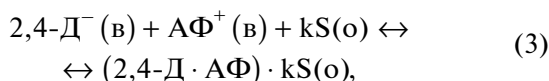
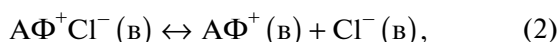
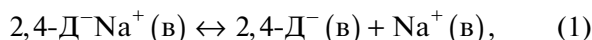


Таблица 1. Основные спектрофотометрические характеристики экстрактов ионного ассоциата 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты с астрафлксином FF (2×10^{-5} М 2,4-Д, 1.6×10^{-4} М АФ, pH 8.5)

Экстрагент	λ_{max} , нм	$\epsilon \times 10^{-4}$	$A_{\text{к}}/A_{\text{х}}^*$
<i>o</i> -Ксилол	546	4.2	14.2
<i>m</i> -Ксилол	545	1.1	12.8
Бутилацетат	536	1.5	3.25
Бензол	546	6.1	13.4
Толуол	546	4.0	33.5

* $A_{\text{к}}$ – оптическая плотность экстракта ИА; $A_{\text{х}}$ – оптическая плотность контрольного опыта без 2,4-Д.

где 2,4-Д[−] – анион 2,4-Д, R⁺ – катион основного красителя АФ, S – молекула органического растворителя.

Аналитические характеристики методики. Градуировочный график зависимости оптической плотности экстрактов от концентрации 2,4-Д описывается уравнением прямой $A = 0.0121 + 0.0597c$ в интервале концентраций 1.0–50 мкг/мл 2,4-Д. Предел обнаружения 2,4-Д, рассчитанный по 3 σ -критерию ($n = 10$, $P = 0.95$), составляет 0.9 мкг/мл. Оценку внутрилабораторного расхождения построения градуировочного графика для определения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты с АФ проводили с применением критерия Кохрена (G) [26]. Рассчитанное значение критерия Кохрена ($n = 5$, $P = 0.95$) меньше табличного значения $G_{\text{расч.}} = 0.27 < G_{\text{табл.}} = 0.64$, что свидетельствует об однородности дисперсии.

На основании полученных данных разработана методика экстракционно-спектрофотометрического определения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и применена для определения ее в модельных смесях, водах и гербицидах (табл. 2, 3). Правильность и точность результатов анализа контролировали методом введено–найдено.

Определение 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в водах. 1.0 мл пробы воды помещают в пробирку, добавляют 0.5 мл буферного раствора с pH 8.5 и далее определение проводят, как описано выше. Количество 2,4-Д находят по градуировочному графику, построенному в аналогичных условиях.

Определение 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в гербицидах. 1.0 мл гербицида вносят в мерную колбу емк. 1000 мл и разбавляют бидистиллированной водой до метки. В пробирку вводят 0.5–

Таблица 2. Результаты определения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в модельных растворах методом введено–найдено ($n = 5$, $P = 0.95$)

Введено 2,4-Д, мкг	В день апробации методики			На следующий день		
	найдено 2,4-Д, мкг	s_p , %	R , %	найдено 2,4-Д, мкг	s_p , %	R , %
6.6	6.6	1.5	100	6.4	2.5	97
15.4	15.5	2.6	101	15.7	2.9	102
19.9	20.4	0.9	103	19.3	2.3	97

Таблица 3. Результаты (мкг/мл) определения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в водах и гербицидах ($n = 5$, $P = 0.95$)

Объект анализа	Введено	Найдено	R , %
Речная вода	0	$<c_{\min}$	–
	1.5	1.4 ± 0.2	93
	5.0	4.8 ± 0.3	96
Минеральная вода	0	$<c_{\min}$	–
	1.5	1.7 ± 0.3	113
	5.0	4.8 ± 0.2	96
Гербицид “Хлибодар”, эмульсия	–	392 ± 16	–
Гербицид “Диален Супер”, эмульсия	–	328 ± 10	–
Гербицид “Прима”, эмульсия	–	194 ± 8	–

1.0 мл исследуемого раствора, добавляют 0.5 мл буферного раствора с pH 8.5 и далее определение проводят, как описано выше. Количество 2,4-Д находят по градуировочному графику, построенному в аналогичных условиях.

Данное исследование поддержано Агентством по научным грантам VEGA Министерства образования Словацкой Республики и Словацкой Академии Наук (Грант № 1/0033/20).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Зинченко В.А.* Химическая защита растений: средства, технология и экологическая безопасность. М.: Колос, 2005. 232 с.
2. *Patnaik P., Khoury J.N.* Determination of acid herbicides in water by GC-MS: A modified method using single extraction and methanol esterification // *Am. Lab.* 2005. V. 37. № 7. P. 12.
3. *Халаф В.А., Турчин В.О., Зайцев В.Н.* Определение 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в водных объектах окружающей среды // *Методы и объекты химического анализа.* 2009. Т. 4. № 1. С. 67.
4. *Rosales-Conrado N., Leon-Gonzalez M.E., Perez-Arribas L.V., Polo-Diez L.M.* Determination of chlorophenoxy acid herbicides and their esters in soil by capillary high performance liquid chromatography with ultraviolet detection, using large volume injection and temperature gradient // *Anal. Chim. Acta.* 2002. V. 470. № 2. P. 147.
5. *Zhang J., Jiang X., Huang W., Qin Q., Zhou Q.* Dispersive liquid-liquid microextraction based on molecular complexation followed by high performance liquid chromatography for the determination of two phenoxy carboxylic acid herbicides in environmental water samples // *Chin. J. Chromatogr.* 2018. V. 36. P. 458.
6. *Bucheli T.D., Gruebler F.C., Müller S.R., Schwarzerbach R.P.* simultaneous determination of neutral and acidic pesticides in natural waters at the low nanogram per liter level // *Anal. Chem.* 1997. V. 69. № 8. P. 1569.
7. *Behbahani M., Najafi F., Bagheri S., Bojdi, M.K., Has-sanlou P.G., Bagheri A.* Coupling of solvent-based de-emulsification dispersive liquid-liquid microextraction with high performance liquid chromatography for simultaneous simple and rapid trace monitoring of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid // *Environ. Monit. Assess.* 2014. V. 186. № 4. P. 2609.
8. *de Amarante O.P., Brito N.M., Dos Santos T.C., Nunes G.S., Ribeiro M.L.* Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its major transformation product in soil samples by liquid chromatographic analysis // *Talanta.* 2003. V. 60. № 1. P. 115.
9. *Ghoniem I.R., Attallah E.R., Abo-Aly M.M.* Determination of acidic herbicides in fruits and vegetables using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2017. V. 97. P. 301.
10. *Liu S., Huang X., Jin Q., Zhu G., He H.* Comparison of extraction solvents and sorbents in the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method for the determination of pesticide multiresidue in fruits by ultrahigh performance pesticide chromatography with tandem mass spectrometry // *J. Sep. Sci.* 2015. V. 38. P. 3525.

11. *Brouwer E.R., Kofman S., Brinkman U.A.Th.* Selected procedures for the monitoring of polar pesticides and related microcontaminants in aquatic samples // *J. Chromatogr. A.* 1995. V. 703. № 1–2. P. 167.
12. *Maleki N., Safani A., Shahbaazi H.R.* Electrochemical determination of 2,4-D at a mercury electrode // *Anal. Chim. Acta.* 2005. V. 530. P. 69.
13. *Xie Ch., Gao Sh., Guo Q., Xu K.* Electrochemical sensor for 2,4-dichlorophenoxy acetic acid using molecularly imprinted polypyrrole membrane as recognition element // *Microchim. Acta.* 2010. V. 169. № 1. P. 145.
14. *Deng A-P., Yang H.* A multichannel electrochemical detector coupled with an ELISA microtiter plate for the immunoassay of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid // *Sens. Actuators B.* 2007. V. 124. № 1. P. 202.
15. *Bollella P., Fusco G., Tortolini C., Sanzò G., Favero G., Mazzei F., Antiochia R.* Inhibition-based first-generation electrochemical biosensors: theoretical aspects and application to 2,4-dichlorophenoxy acetic acid detection // *Anal. Bioanal. Chem.* 2016. V. 408. № 12. P. 3203.
16. *Alesso M., Talio M.C., Fernández L.P.* Solid surface fluorescence methodology for fast monitoring of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in seed samples // *Microchem. J.* 2017. V. 135. P. 60.
17. *Бородулева А.Ю., Еремин С.А.* Определение 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в зерне хлебных злаков методом поляризационного флуоресцентного иммуноанализа // *Журн. аналит. химии.* 2016. Т. 71. № 9. С. 988. (*Boroduleva A.Y., Eremin S.A.* Determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in cereals by fluorescence polarization immunoassay // *J. Analyt. Chem.* 2016. V. 71. № 9. P. 949.)
18. *Duarte E.H., Casarin J., Sartori E.R., Tarley C.R.T.* Integrating fluorescent molecularly imprinted polymer (MIP) sensor particles with a modular microfluidic platform for nanomolar small-molecule detection directly in aqueous samples // *Sens. Actuators B.* 2018. V. 255. P. 166.
19. *Морозова В.С., Левашова А.И., Еремин С.А.* Определение пестицидов методом иммуноферментного анализа // *Журн. аналит. химии.* 2005. Т. 60. № 3. С. 230. (*Morozova V.S., Levashova A.I., Eremin S.A.* Determination of pesticides by enzyme immunoassay // *J. Analyt. Chem.* 2005. V. 60. № 3. P. 202.)
20. *Weller M.G., Schuetz A.J., Winklmair M., Niessner R.* Highly parallel affinity sensor for the detection of environmental contaminants in water // *Anal. Chim. Acta.* 1999. V. 393. P. 29.
21. *Попов С.А., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А.* Спектрофотометрическое определение 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты после сорбционного концентрирования на полимере с молекулярными отпечатками // *Заводск. лаборатория. Диагностика материалов.* 2009. Т. 75. № 3. С. 11.
22. *Wen Y., Yu Ch., Zhang J., Zhu C., Li X., Zhang T., Niu Z.* Determination of 2, 4-D in water samples by salting-out assisted liquid-liquid extraction-UV-Vis // *IJARCS.* 2015. V. 2. № 3. P. 8.
23. *Que Hee S.S., Sutherland R.G.* The Phenoxyalkanoic Herbicides. Chemistry, Analysis and Environmental Pollution. Boca Raton: CRC Press Inc., 1981. 321 p.
24. *Мельников Н.Н.* Пестициды. Химия, технология и применение. М.: Химия, 1987. 712 с.
25. *Базель Я.Р., Кормош Ж.А., Толмачев А.А.* Состояние в водных растворах и химико-аналитические свойства полиметиновых производных индолия - стиролов и карбоцианинов // *Журн. аналит. химии.* 2002. Т. 57. С. 144. (*Bazel Ya., Kormosh Zh., Tolmachev A.* State of polymethine (styryl and carbocyanine) indolium derivatives in aqueous solution and their analytical properties // *J. Analyt. Chem.* 2002. V. 57. P. 118.)
26. *Дворкин В.И.* Метрология и обеспечение качества количественного химического анализа. М.: Химия, 2001. 263 с.