

*Különnyomat a Kertészeti Egyetem Közleményeiből.
Sep. Publ. Univ. Horticult. Vol. XXXV. 1971. számából*

2,4-DIKLÓR-FENOXI-ECETSAV SZERMARADVÁNY GÁZKROMATOGRÁFIÁS MEGHATÁROZÁSA

TÓTH ÁRPÁD
tudományos munkatárs

RÓNÁNÉ, KOVÁCS ZSUZSA
tudományos segédmunkatárs

BALÁZS ERVIN
egyetemi hallgató

A KERTÉSZETI EGYETEM KÉMIAI TANSZÉKE

Tanszékvezető:

DR. PAIS ISTVÁN
egyetemi tanár, a kémiai tudományok kandidátusa

és

A KERTÉSZETI EGYETEM MEZŐGAZDASÁGI TANSZÉKE

Tanszékvezető:

DR. TÓTH TIBOR
egyetemi tanár, a mezőgazdasági tudományok kandidátusa

BEVEZETÉS, IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A 2,4-diklór-fenoxi-ecetsav (2,4-D) és származékai ma a leggyakrabban alkalmazott herbicidek. Széles körű elterjedésüket egyéb előnyös tulajdonságaik mellett az is elősegítette, hogy a melegvérű állatokra gyakorolt mérgező hatásuk igen gyenge. Ennek ellenére szermaradványkénti analizise igen nagy jelentőségű, bár nem humántaxikológiai szempontból, hanem amiatt, hogy a kertészeti termékekben (elsősorban a gyümölcsökben) megmaradt igen kis mennyiségei is kellemetlen ízt, illetve illatot okoznak. A talajban maradt 2,4-D szermaradvány pedig a vetésforgóban következő érzékeny kertészeti kultúrát károsíthatja.

Munkánkban a 2,4-D-nátrium-só (2,4-D-Na) szennyeződésnek kitett növényekben végeztünk el szermaradvány-meghatározásokat, tehát kinyerési és meghatározási módszerünket 2,4-D-Na-sóra, illetve 2,4-D-re dolgoztuk ki.

Irodalmi adatok (YIP, 1962; BEVENUE, 1962; CROSBY, 1964; HAGIN, 1965) szerint a 2,4-D extrakcióját savas közegből végzik, és az extraktum tisztítására a közeg pH-jának változtatásával egyidejűleg oldószerváltoztatást alkalmaznak. A gyakorlati kivitelezés egyik általánosan alkalmazott menete a következő: a megsavanyított mintából a 2,4-D a növényből kioldott anyagokkal együtt az organikus extraktumba megy át. Ezt az extraktumot lúgos vízzel kirázva, a 2,4-D sója alakul ki, amely a vizes fázisba megy át, a növényből kioldott (az extraktumot szennyező) anyagok nagy része a szerves fázisban marad. A lúgos vízben levő 2,4-D-só többnyire nem alkalmas a további feldolgozásra, ezért a vizes oldatot átsavanyítva, a 2,4-D-t ismét — most már a növényből kivont egyéb anyagoktól megtisztítva — az organikus fázisba viszik.

A fent vázolt eljárás idő- és munkaigényes, de semmiféle különleges felszerelést vagy vegyszert nem igényel.

A kísérleti részben leírt eljárásunkat a fenti elvek alapján dolgoztuk ki.

Tekintve, hogy a gázkromatográfiás eljárás első lépése a vizsgált vegyület elgőzöltetése, ezért az atmoszferikus nyomáson számottevően nem illékony 2,4-D-t át kell alakítani az illékonyabb 2,4-diklór-fenoxi-ecetsav-metil-észter-ré (2,4-D-Me).

Amíg a mintaelőkészítésre rendkívül sok módszert alkalmaznak, az észterezésre a gyakorlatban mindössze két eljárás terjedt el; a 2,4-D-Me-t metanolos közegben bór-trifluorid, vagy diazo-metán segítségével állítják elő. Mindkét reakció kivitelezése rendkívül nehéz, a szükséges vegyszerek igen erős mérgek, és hosszú ideig nem tárolhatók.

A fentiek figyelembe vételével a 2,4-D metilezésére egy ritkán alkalmazott módszert választottunk, amely azon a reakción alapul, hogy híg, metanolos oldatban a 2,4-D perklórsav jelenlétében kvantitatíve 2,4-D-Me-vé alakul át (WISNIEWSKI, 1966). A reakció elvégzése egyszerű és gyors.

KÍSÉRLETI RÉSZ

Vegyszerek: Kloroform, a. lt. Egyenlő mennyiségű vízzel háromszor kiráztuk, majd desztillációval tisztítottuk.

Nátrium-szulfát, vízmentes, a. lt.

Kénsav, 96%-os, a. lt.

Nátrium-karbonát, a. lt.

Metanol: a. lt. Desztillált.

Perklórsav, min. 70%, a. lt.

n-Hexán, a. lt., cc. kénsavval kezelt, savmentesre mosott, desztillált.

Műszerek: Abszorpciós spektrofotométer: Spektromom 202.

Gázkromatográf: Carlo Erba, FRACTOVAP D-AC, 300 mCi triciumos elektronbefogási detektorral (ECD).

Az extrakciós és tisztítási eljárás vizsgálata modelloldatokon

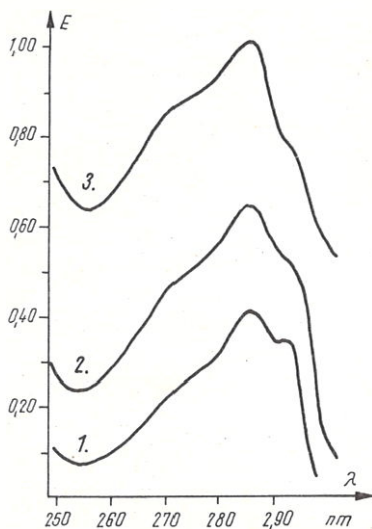
Az extrakciós és tisztítási lépések a következők voltak: 50 ml, 50 ppm 2,4-D-t tartalmazó vizes oldatok pH-ját cc. kénsavval 2—2,5-re állítottuk be.

Extrakció 4×20 ml kloroformmal, majd az egyesített kloroformos extraktumot kb. 20 ml-re pároltuk be. A lepárolt kloroformban nem volt spektrofotometriásan mérhető mennyiségű 2,4-D.

A betöményített kloroformos oldatokat 4×20 ml vizes nátrium-karbonát oldattal (pH=11) extraháltuk. Az extrakciók után visszamaradt kloroformban csak elhanyagolható mennyiségű 2,4-D-t találtunk.

Az egyesített vizes fázisok pH-ját cc. kénsavval kb. 2—2,5-re állítottuk, majd 4×30 ml kloroformmal extraháltuk. Az egyesített kloroformos extraktumot óvatosan szárazra pároltuk, majd tiszta kloroformmal 50 ml-re töltöttük fel. A szárazra párlásnál lepárolt kloroformban nem találtunk 2,4-D-t, és az eredeti térfogatra töltött kloroformos oldatban az eredeti 2,4-D mennyiség 95—107%-át találtuk.

A növénymintákban jelenlevő zavaró anyagok hatását, valamint a tisztítási eljárás hatékonyságát a következőképpen vizsgáltuk: a kiindulási vizes 2,4-D oldatokat tiszta kloroformmal (az egyesített extraktumok abszorpciós görbéje az 1. ábra, 1. görbe), és olyan kloroformmal extraháltuk, mellyel előzőleg 2,4-D tartalmú szerrel nem érintkezett növényt extraháltunk Soxhlet-készülékben. Az utóbbi módszerrel elértük, hogy ismert mennyiségű 2,4-D-t extraháltunk, ugyanakkor növényi anyagot is vittünk a rendszerbe. A növényanyagot tartalmazó kloroformmal kapott extraktumot egyik esetben



1. ábra. 1. görbe: 2,4-D-t tartalmazó vizes oldat kloroformos extraktumának abszorpciós spektruma 250—300 nm hullámhosszak között. 2. görbe: 2,4-D-t tartalmazó vizes oldat növényi anyagokat tartalmazó kloroformmal készült extraktumának abszorpciós spektruma. Az extraktumot a leírt eljárással tisztítottuk. 3. görbe: 2,4-D-t tartalmazó vizes oldat növényi anyagokat tartalmazó kloroformmal készült extraktumának abszorpciós spektruma, az extraktum tisztítása nélkül

tisztítási eljárásnak vettük alá, a másik esetben nem.

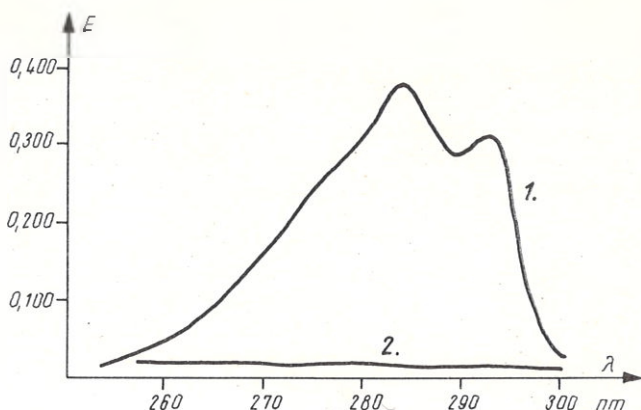
Az extraktumok abszorpciós spektrumait összehasonlítva látható, hogy tisztítás nélkül igen sok szennyező anyag van a kloroformos közegben, melyek extinkcióértékei hozzáadódnak a 2,4-D extinkciójához (1. ábra, 3. görbe). Tisztítási eljárást alkalmazva, a szennyező anyagok mennyisége erősen lecsökkent, bár még így is számottevő, és a pontos kvantitatív értékelést lehetetlenné teszi (1. ábra, 2. görbe).

Az észteresítést WISNIEWSKI és UMBREIT (1966) közleménye alapján a következőképpen végeztük. Tiszta 2,4-D-t metanolban oldva, 100 ppm koncentrációjú oldatot készítettünk. Ennek az oldatnak 10 ml-éhez 0,5 ml perklórsavat adtunk, és összerázva, 1 óráig állni hagytuk, majd 9,5 ml vizet adtunk az elegyhez, és 3 × 20 ml n-hexánnal extraháltuk.

Az egyesített n-hexános extraktumok abszorpciós spektrumát 250–300 nm hullámhosszak között vettük fel. A 2,4-D és a 2,4-D-Me abszorpciós spektrumai igen hasonlóak (MILNER, M. P., 1963), de a 2,4-D n-hexánban nem oldódik. Üreskísérletként metanolos 2,4-D oldathoz vele egyenlő térfogatú vizet adtunk, és az előzők szerint extraháltuk. A 2. ábrán feltüntetett spektrumokból jól látható, hogy az észteresítési reakció valóban végbement.

A n-hexános extrakció után visszamaradt metanol-perklórsav-víz elegy esetén a fenti hullámhosszak között mérhető extinkciót nem kaptunk. Az észteresítés és az extrakció kvantitatív lefolyását bizonyítja, hogy a metanolos oldatban sem észteresítetlen 2,4-D, sem 2,4-D-Me nem maradt. Mérési eredményeink azt mutatták, hogy a metanol-perklórsav-víz elegyből a 2,4-D-Me kivonásához az eleggyel egyenlő térfogatú n-hexánnal háromszori extrakció elegendő.

A gázkromatográfiás ECD előtt a mintában levő víznek a nyomait is el kell távolítani. Erre a célra vízmentes nátrium-szulfátot használtunk. Annak megállapítására, hogy a nátrium-szulfát okoz-e veszteséget a n-hexánban oldott 2,4-D-Me tartalomban; a következő kísérleteket végeztük: a n-hexános oldatokhoz emelkedő mennyiségben vízmentes nátrium-szulfátot adtunk. Néhány órai állás után mértük az oldatok extinkcióit 284 nm hullámhossznál. A mért értékek a mérési hibahatáron belül megegyeztek, ami bizonyítja, hogy a nátrium-szulfátos vízelvonás nem okoz észreveszhető veszteséget a 2,4-D-Me tartalomban.



2. ábra. 1. görbe: 2,4-D-Me n-hexános oldatának abszorpciós spektruma. 2. görbe: Észteresítetlen 2,4-D n-hexános extraktumának abszorpciós spektruma (üreskísérlet)

A KÍSÉRLETEK ANYAGA ÉS MÓDSZERE

Az előzőekben leírt módszerrel végeztük el a Dikonirtot termelő vegyipari üzem légszennyezésének kített körzetben termett gyümölcsök 2,4-D tartalmának meghatározását. A vizsgálati anyagot a légszennyezés forrásától mért 5—15 km távolságban begyűjtött minták átlagosításával nyertük. Az alma- és szilvamintákat 1969. IX. 21-én, a többi mintát 1969. VII. 11-én gyűjtöttük be.

A növényi anyagoknál alkalmazott mintaelőkészítés összefoglaló leírása

Kb. 500 g friss gyümölcsből rostos gyümölcslet készítettünk, melyet 0,25 % hangyasavval tartósítva, leforrasztott üvegedényben $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tároltunk a vizsgálatig.

100 ml gyümölcslevet 2 ml cc. kénsavval megsavanyítottunk, és 4×30 ml kloroformmal rázógépen 5—5 percig ráztuk, majd 8000 ford./perc fordulatszámra centrifugáltuk. A fázisokat szétválasztva, a kloroformos fázisokat egyesítettük, a vizes fázist kiöntöttük.

Az így kapott kb. 120 ml kloroformos oldatot kb. 20 ml térfogatra óvatosan bepároltuk. A lepárolt kloroformot kiöntöttük, a 20 ml-re bepárolt oldatot 4×20 ml vizes nátrium-karbonát oldattal ($\text{pH}=11$) ráztuk, majd centrifugáltuk, és a fázisokat szétválasztottuk. A kloroformos fázist kiöntöttük, a vizes fázisokat egyesítettük.

A nátrium-karbonátos fázisok pH -ját cc. kénsav cseppenkénti adagolásával 2—2,5-re állítottuk be, majd 4×30 ml kloroformmal a fentiek szerint ráztuk és centrifugáltuk. A kloroformos fázisokat egyesítettük, a vizes fázist kiöntöttük. Az egyesített kloroformos fázist vízmentes nátrium-szulfáttal kezeltük, majd lassú desztillációval kb. 5 ml térfogatra pároltuk be.

Mivel az ECD rendkívül érzékeny a kloroformra, a végső kloroformos extraktumot vízfürdőn óvatosan szárazra pároltuk. A maradékot 9—10 ml metanolban oldottuk, ismét szárazra pároltuk, és újabb 10 ml metanolban feloldottuk. 0,5 ml 70%-os perklórsavat hozzáadva, egy óráig (időnként összerázva) állni hagytuk. Ezután 10 ml víz hozzáadásával 4×10 ml n-hexánnal extraháltuk. Az egyesített n-hexános extraktumot 2 g vízmentes nátrium-szulfáttal vízmentesítettük, majd az oldat felett nitrogéngázt átáramoltatva, szobahőfokon kb. 5 ml-re bepároltuk. A bepárlást kalibrált edényben 2,00 ml végtérfogatig folytattuk. A gázkromatográfiás vizsgálathoz ebből az oldatból mértünk be.

A 2,4-D-Me gázkromatográfiás meghatározásának paraméterei

A meghatározáshoz Chromosorb W 80/100 hordozóra felvitt 1% SE-30 töltettel készített 2 m hosszú, 2 mm belső átmérőjű kolonnát használtunk.

Az optimálisnak talált mérési paraméterek a következők voltak:

Kolonnahőfok: $145\text{ }^{\circ}\text{C}$ izoterm.

Elgőzöltető hőfoka: $220\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Vívógáz: nagy tisztaságú nitrogén.

Áramlási sebesség: 193 ml/perc, a kolonna hőfokán.

ECD hőfoka: $180\text{ }^{\circ}\text{C}$.

ECD detektorfeszültsége: 5,0 V.

Bemért mintamennyiség: 10 μl .

A fenti paraméterek mellett végeztünk méréseket mind a modelloldatok, mind a szermaradvány meghatározások esetében.

A mennyiségi kiértékelés céljára tiszta 2,4-D-ből a leírt metilezési eljárással készített 200 ppm és 5 ppm közötti koncentrációjú oldatokat használtunk. (10 µl bemért oldatban így 2,0 µg és 0,05 µg közötti 2,4-D-Me mennyiségek voltak.) Ebben a koncentráció tartományban a detektor által adott jel területe lineárisan változott a koncentrációval.

Összefoglalás

A meghatározások eredményeit az 1. táblázatban foglaltuk össze.

1. táblázat. Dikonirt légszennyeződésnek kitétt gyümölcsök 2,4-D tartalma

Vizsgálati anyag	2,4-D koncentráció a nyers gyümölcsben (ppm)
Szilva	0,55
Alma	0,15
Kajsziarack	0,08
Őszibarack	nem mutatható ki
Egres	kb. 0,01
Meggy	0,18

A vizsgálatok eredményei bizonyították, hogy a Dikonirt ipari légszennyeződésnek kitétt körzetben termesztett gyümölcsök nagy részében kimutatható 2,4-D.

További kísérleteink bizonyították, hogy az általunk alkalmazott eljárás sikerrel használható a 2,4-D szermaradvány kinyerésére gyümölcsökből, gyümölcslevekből, zöldségnövényekből és zöldségekből, de nem, vagy igen rossz hatásfokkal alkalmazható magvak, valamint nagy olaj- és zsírtartalmú növényi részek esetén.

A kézirat leadva: 1971. március 20.

Irodalom

- YIP, G.: 1962. Determination of 2,4-D and other chlorinated phenoxy alkyl acids. J. of the A. O. A. C., 45: 367—376. p.
- BEVENUE, A.—ZWEIG, G.—NASH, N. L.: 1962. Residue determination of 2,4-D in dry crops and walnuts. J. of the A. O. A. C., 45: 990—993. p.
- CROSBY, D. G.: 1964. Metabolites of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in bean plants. J. Agr. Food Chem., 12: 3—6.
- HAGIN, R. D.—LINSOTT, D. L.: 1965. Determination of 4-(2,4-dichlorophenoxy)-butyric acid (2,4-DB) and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in forage plants. J. Agr. Food Chem., 13: 123—125. p.
- WISNIEWSKI, J. V.—UMBREIT, G. R.: 1966. Perchloric acid catalyzed esterification simplifies GC determination of acid herbicides. Facts & Methods for Scientific Research, 7: 6—7.
- MILNER, M. P.—HOLZER, F. J.—LEARY, J. B.: 1963. Simultaneous determination of esters of 2,4-D and 2,4,5-T in pesticide formulations. J. of the A. O. A. C., 46: 655—659. p.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТАТКОВ 2,4 ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

А. Тот—Ж. Ронаэ-Ковач—Э. Балаж

Резюме

Авторы изучали содержание 2,4-Д в плодах на территории подверженной влиянию воздуха загрязненного промышленным Дикониртом. На основании литературных данных они разработали экстракционный метод, не требующий специальных химикатов и оборудования, который обеспечивает практически количественное получение остатков вещества.

Перед измерением 2,4-Д газовым хроматографом, 2,4-Д был переведен в сложный метиловый эфир. Определение проводилось газовым хроматографом типа Carlo Erba FRACTOVAP D—AC с помощью электронов адсорбционного детектора. Разработанным методом, точно измеряемое меньшее количество 2,4-Д составляло 0,05 $\mu\text{г}$.

Этот метод хорошо можно использовать при анализе плодов, плодовых соков, зеленых частей растений и анализе овощей. Однако, не обеспечивает количественное получение при обработке образцов с высоким содержанием масел и жиров.

GASCHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF 2,4-DICHLOR-PHENOXI-ACETIC ACID RESIDUES

A. Tóth—Zs. R. Kovács—E. Balázs

Summary

The paper presented by Authors deals with determination of 2,4-D content of fruits grown in areas exposed to airpollution of *Dikonirt production*. Relying on data got from literature, they have worked out an extraction method not requiring any special equipment or chemicals — that practically will ensure a quantitative obtaining of the residues.

2,4-D was — before gaschromatographic measurements — transformed into 2,4-D-methyl-ester and determined with the help of Carlo Erba FRACTOVAP D—AC type gaschromatograph, by electroncapturing detection. Minimum quantity of 2,4-D measurable by this method was 0.05 μg .

The method promises good results in cases of fruits, juices, green plant parts, and vegetables, but no quantitative obtaining proved secure on samples with high oil or fat content.