

JELENA ĐORĐEVIĆ¹
TATJANA TRTIĆ-PETROVIĆ¹
KSENIJA KUMRIĆ¹
MILOVAN PURENOVIĆ²

¹Laboratorija za fiziku, Institut za nuklearne nauke „Vinča“, Beograd

²Prirodno-matematički fakultet, Odsek za hemiju, Univerzitet u Nišu, Niš

NAUČNI RAD

UDK 632.95:66.061.1

DOI: 10.2298/HEMIND091221024D

PRIMENA ACD/LABS 12 PROGRAMA ZA ODREĐIVANJE EKSPERIMENTALNIH USLOVA ZA MEMBRANSKU EKSTRAKCIJU PESTICIDA*

U ovom radu analizirani su uslovi za membransku ekstrakciju pesticida korišćenjem ACD/LABS 12 programa. Program sadrži veliku bazu podataka više od 2000 jedinjenja i njihovih jonizovanih vrsta, za određivanje pKa, dodatno analiza uključuje i novih 600 jedinjenja proverenih Hammett-ovom jednačinom, što daje preciznije vrednosti za logD i rastvorljivost. Razmatrano je 16 pesticida različitih klasa (organofosfati, karbamati, karbamidi, neonikotenoide i dr.) i polarnosti koji se najčešće koriste kod nas. Program je upotrebljen za izračunavanje logD, pKa i rastvorljivosti na različitim pH vrednostima za smešu pesticida. Na osnovu izračunatih vrednosti predloženi su uslovi za ekstrakciju pesticida iz vodenih rastvora primenom dvofazne tečno-tečne membranske ekstrakcije.

Pesticidi su proizvodi hemijskog ili biološkog porekla koji su namenjeni zaštiti biljaka od korova, bolesti i štetnih insekata i predstavljaju veoma heterogenu i brojnu grupu jedinjenja. U svetu je danas registrovan veliki broj različitih pesticida i njihovih metabolita [1]. U prirodne vodotokove, kao i podzemne vode, pesticidi dospevaju ispiranjem zemljišta koje je tretirano pesticidima [2]. Pesticidi se dele prema nameni, prema načinu i karakteru delovanja, toksičnosti, kancerogenosti, mutagenosti, perzistentnosti, kao i prema pripadnosti hemijskoj grupi jedinjenja. Najčešće analitičke metode koje se koriste za određivanje pesticida su gasna hromatografija (GC, eng. *gas chromatography*) koja je pogodna za određivanje nepolarnih jedinjenja, i tečna hromatografija (LC, eng. *liquid chromatography*) koja je pogodnija za određivanje polarnijih jedinjenja. Poslednjih godina se sve više koriste polarniji i manje isparljivi pesticidi, pa je i značajnija upotreba tečne hromatografije za analizu pesticida, posebno tečne hromatografije visokih performansi sa masenom spektroskopijom kao detekcionom metodom (HPLC-MS, eng. *high performance liquid chromatography-mass spectrometry*) [3].

Priprema uzorka, u kome se pesticidi odvajaju od makromolekula iz matriksa, koncentruju i prevode u oblik pogodan za detekciju, predstavlja jedan od najvažnijih koraka u analizi pesticida. Najčešće metode koje se koriste za pripremu uzorka su ekstrakcija na čvrstoj fazi (SPE, eng. *solid phase extraction*) i varijante disperzivne i nedisperzivne tečno-tečne ekstrakcije koje je moguće primeniti u minijaturizovanom obliku. Određivanje pesticida u realnim uzorcima je komplikovan zadatak zbog njihove različite polarnosti, termičke nestabilnosti i niskih koncentracija, najčešće reda veličine ng

dm⁻³. Atrazin je npr. prema Evropskoj direktivi iz 2006. godine na listi jedinjenja koje ugrožavaju životinjski i biljni svet, a propisana dozvoljena koncentracija u prirodnim vodama je 0,6 µg dm⁻³ [4].

Membranska ekstrakcija je nedisperzivna tečno-tečna ekstrakcija u kojoj dolazi do razmene mase između dve nemešljive tečnosti razdvojene mikroporoznom membranom [5]. Membrana je samo posrednik u prenosu mase između dve faze i ona omogućava formiranje i održavanje velike međufazne površine [6,7]. Postoje dva načina primene membranske ekstrakcije: dvofazna membranska ekstrakcija (MMLLE, eng. *microporous membrane liquid-liquid extraction*) i trofazna membranska ekstrakcija tzv. pertrakcija (SLME, eng. *supported liquid membrane extraction*). U dvofaznoj membranskoj ekstrakciji (slika 1a), vodena i organska faza su razdvojene mikroporoznom membranom koja može biti hidrofobna ili hidrofilna. Za ekstrakciju iz vodene faze najčešće se koristi hidrofobna membrana, i u tom slučaju kontaktna površina se formira na ušću pora membrane ka vodenoj strani.

U trofaznoj membranskoj ekstrakciji (slika 1b), organska faza se nalazi imobilisana u porama hidrofobne membrane, a sa obe strane membrane nalaze se vodene faze, donor (polazni rastvor iz koga se željeno jedinjenje ekstrahuje) i akceptor (rastvor za reekstrakciju). MMLLE se uglavnom koristi za ekstrakciju hidrofobnih jedinjenja, dok je SLME pogodnija za ekstrakciju polarnih jedinjenja.

Mikroporozne hidrofobne membrane [8-10] najčešće su polipropilenske ili poli(tetrafluoroetenske), i mogu biti ravne ili u obliku šuplje kapilare. Organska faza koja se koristi u membranskoj ekstrakciji treba da ima sledeće karakteristike: visoku selektivnost u odnosu na jedinjenje koje se analizira, visok koeficijent raspodele, nisku rastvorljivost u vodi, kao i nisku viskoznost koja odgovara velikim koeficijentima difuzije kroz tečnu membranu [11].

Membranska ekstrakcija ima niz prednosti u odnosu na klasične ekstrakcione tehnike za pripremu uzorka, kao što su: dobijanje visokih koncentracionih fak-

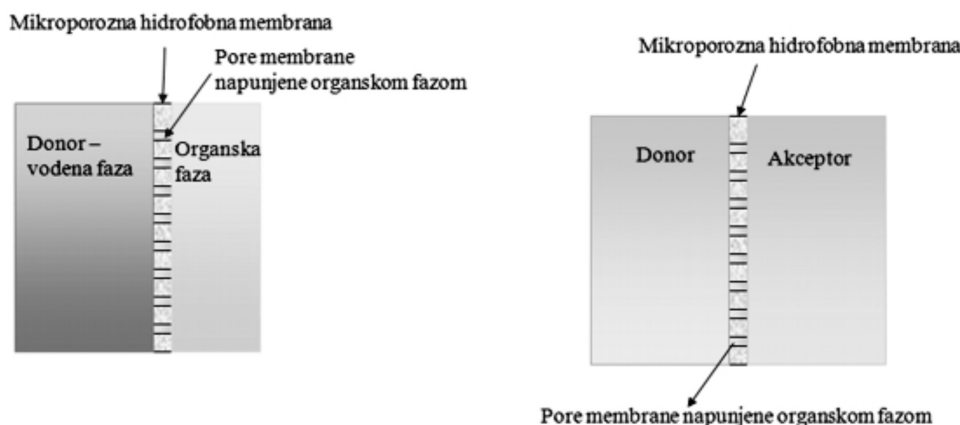
*Rad saopšten na skupu „Osma konferencija mladih istraživača“, Beograd, 21-23. decembar 2009.

Autor za prepisku: J. Đorđević, Laboratorija za fiziku (010), Institut za nuklearne nauke „Vinča“, Mihajla Petrovića Alasa 12-14, 11001 Beograd, Srbija.

E-pošta: jrdjrdjevic@vinca.rs

Rad primljen: 21. decembar 2009.

Rad prihvaćen: 21. januar 2010.



Slika 1. Shematski prikaz membranske ekstrakcije. a) Dvofazna membranska ekstrakcija; b) trofazna membranska ekstrakcija.
Figure 1. Schematic contents of membrane extraction. a) Two-phase membrane extraction; b) three-phase membrane extraction.

tora što omogućava određivanje niskih koncentracija analita, eliminacija problema koji nastaju kao posledica disperzije, velika, potpuno definisana površina između faza. Takođe, minimalna potrošnja organskog rastvarača (u minijaturizovanim membranskim sistemima nekoliko μL), laka automatizacija procesa i niska cena membrana.

Predmet ovog istraživanja bio je ispitivanje mogućnosti primene dvofazne membranske ekstrakcije kao metode za pripremu uzorka tj. koncentrovanja pesticida i odvajanje od matriksa, pre hromatografske analize.

Metoda

Program koji je korišćen za određivanje najpogodnijih uslova za ekstrakciju je ACD/LABS PhysChem Suite, v. 12 (Advanced Chemistry Development Inc. Toronto, Canada) [12]. Ovaj program brzo i tačno određuje kiselinsko-bazne jonizacione konstante (pK_a), distribucione koeficijente ($\log D$), rastvorljivosti i tačku ključanja, za širok spektar organskih jedinjenja.

ACD/LABS 12 program sadrži alat koji nije dostupan u nekim drugim komercijalnim paketima za crtanje, uključujući i alat za prikaz 2D strukture, 3D optimizaciju i pregled, prikaz izomera i tautomera, polimera, organometalnih jedinjenja i imenovanje molekula sa manje od 50 atoma i 3 prstena po IUPAC-u. Ova verzija može da skladišti hemijske i analitičke podatke u istoj bazi, ima brz unos, pretraživanje reakcija i shema metabolizma putem razlike mase, sređivanje podataka i ubacivanje podataka direktno u Excel.

ACD/LABS 12 softver se koristi za određivanje osobina jedinjenja i predviđanje njihovog ponašanja u različitim eksperimentalnim uslovima čime se omogućava bolje planiranje eksperimenata, kao i ušteda u vremenu i potrošnji materijala. Takođe, ovaj softverski paket ima mogućnost da radi spektroskopsku validaciju strukture, da da prikaz nepoznatih supstanci, predviđa hromatografsko odvajanje. Njegovo korišćenje značajno je i u nastavi hemije.

ACD/LABS 12 program koristi Hammett-ovu jednačinu za predviđanje pK_a vrednosti. Pored toga, na raspolaganju su referentne baze podataka koje omogućavaju brz pregled koji sadrži >31000 eksperimentalnih pK_a vrednosti za oko 16000 jedinjenja u vodenom rastvoru, a takođe sadrži i eksperimentalne podatke za više od 2000 molekula u nevodnim rastvaračima. Ovaj softver koriste farmaceutske kompanije, pa je testiran veliki broj hemijskih jedinjenja koja pripadaju različitim klasama.

U ovom radu primenom ACD/LABS 12 softvera analizirani su sledeći pesticidi: acefat ((*N*-(metoksi-metilsulfanilfosforil)acet-amid), atrazin (1-hloro-3-etilamino-5-isopropil-amino-2,4,6-triazin), dimetoat (*O,O*-dimetil-*S*-[2-(metilamino)-2-oksoetil] ditiofosfat), imidakloprid (*N*-[1-[(6-hloro-3-piridil)metil]-4,5-dihidroimidazol-2-il]nitramid), linuron (3-(3,4-dihlorfenil)-1-metoks-1-metilurea), monokrotofos (dimetil(*E*)-1-metil-2-(metilkarbamoil) vinilfosfat), propazin (6-hloro-*N*2,*N*4-diizopropil-1,3,5-triazin-2,4-diamin), tebufenozid (*N*-terc-butil-*N'*-(4-etil-benzoil)-3,5-dimetilbenzohidrazid), acetamiprid (*N*-[(6-hloro-3-piridil) metil]-*N'*-ciano-*N*-metil-acetamidin), karbofuran (2,2-dimetil-2,3-dihidro-1-benzofuran-7-il metilkarbammat), diuron (3-(3,4-dihloro-fenil)-1,1-dimetilurea), karbendazim (metil-*1H*-benzimidazol-2-il-karbamat), malation (2-(dimetoksi-fosfinotioil)io) butandionska kiselina dietil estar), monuron (3-(4-klorofenil)-1,1-dimetilurea), simazin (6-hloro-*N,N'*-dietil-1,3,5-triazin-2,4-diamine, karbaril (1-naftilmetil-karbamat) [1,13–15].

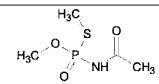
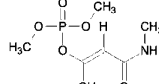
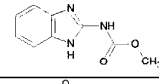
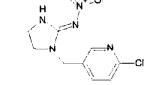
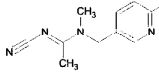
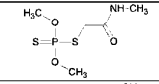
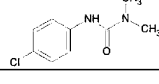
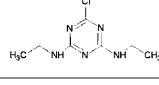
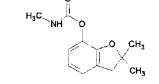
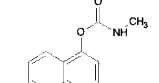
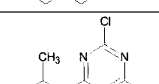
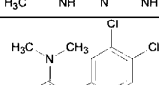
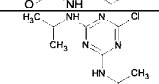
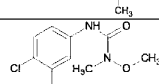
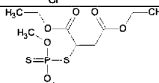
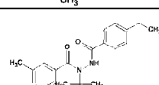
REZULTATI I DISKUSIJA

U ovom radu analizirano je 16 pesticida koji se najčešće koriste u našoj zemlji (slika 2), a pripadaju sledećim hemijskim grupama: organofosfati, karbamidi, karbamati, fenoluree, benzimidazoli, benzohidrazidi, neonicotinoidi, triazini i metiluree. Ekstrakcija nekog jedinjenja i izbor ekstragensa i uslova ekstrakcije (npr.

pH rastvora za ekstrakciju) zavisi od njegovih karakteristika, pre svega njegove polarnosti. S obzirom da se radi o veoma heterogenoj grupi jedinjenja, da bi odredili polazne uslove za ekstrakciju (pH donora i pogodan ek-

stragens), odredili smo prvo konstante disocijacije i koeficijent raspodele ispitivanih jedinjenja.

Efikasnost membranske ekstrakcije definiše se kao količina analita, u odnosu na polaznu količinu, koji je iz

Pesticidi	Struktura	Funkcija	Hemijska grupa	pKa	log D pH=2	log D pH=4	log D pH=5	log D pH=8	log D pH=10
Acefat		Insekticid	Organofosfati	11 -1,6	-0,85	-0,85	-0,85	-0,85	-0,89
Monokrotofos		Insekticid	Organofosfati	13,06 -1,3	-0,57	-0,57	-0,57	-0,57	-0,57
Karbendazim		Fungicid	Benzimidazoli	17,4 11,62 5,66	-0,96	-0,16	0,72	1,52	1,42
Imidakloprid		Insekticid	Neonikotinoidi	0,26 -4,08	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46
Acetamiprid		Insekticid	Neonikotinoidi	-0,44 -2,47	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55
Dimetoat		Insekticid	Organofosfati	14,4 -0,98	1,37	1,37	1,37	1,37	1,37
Monuron		Insekticid	Feniluree	14,22 -0,29 -2,41	1,83	1,84	1,84	1,84	1,83
Simazin		Herbicid	Triazini	2,4 2,15 -0,67	1,42	2,26	2,28	2,28	2,28
Karbofuran		Insekticid	Karbamati	12,28 -1,49	1,73	1,73	1,73	1,73	1,73
Karbaril		Insekticid	Karbamati	12,02 -1,55	2,34	2,34	2,34	2,34	2,34
Atrazin		Herbicid	Triazini	2,27 -2,56	1,88	2,62	2,63	2,64	2,64
Diuron		Herbicid	Metiluree	13,55 -1,09 -2,48	2,68	2,68	2,68	2,68	2,67
Propazin		Herbicid	Triazini	2,28 -2,06	2,32	2,97	2,99	2,99	2,99
Linuron		Insekticid	Feniluree	12,33 -1,04	3,12	3,12	3,12	3,12	3,12
Malation		Insekticid	Organofosfati	-	2,38	2,38	2,38	2,38	2,38
Tebufenozid		Insekticid	Benzohidrazidi	10,89 -2,2 -3,49	4,38	4,38	4,38	4,38	4,33

Slika 2. Glavne karakteristike ispitivanih pesticida.

Figure 2. The main characteristics of studied pesticides.

polaznog rastvora (donora) prešao u organsku fazu. Važan parametar koji utiče na efikasnost ekstrakcije je koeficijent raspodele analita između vodene i organske faze. ACD/LABS 12 program omogućuje izračunavanje koeficijenta raspodele ($\log D$ između vode i oktanol) za različite pH vrednosti polaznog rastvora, kao i određivanje pK_a vrednosti. Nizak koeficijent raspodele ($\log D < 1$) znači da se analit ne rastvara dovoljno u organskoj fazi, što ima za posledicu smanjenu efikasnost ekstrakcije. Visok koeficijent raspodele nekog jedinjenja omogućava potpunu ekstrakciju željenog jedinjenja iz vodene u organsku fazu i u tom slučaju je pogodno koristiti dvofaznu membransku ekstrakciju.

Na slici 2 date su najvažnije karakteristike ispitivanih pesticida, njihove strukture, funkcije, hemijske grupe, kao i izračunate vrednosti pK_a i $\log D$. Pesticidi su poređani po polarnosti, počevši od najpolarnijeg. Izračunate vrednosti $\log D$ se kreću u intervalu od $-0,85$ do $4,38$ za opseg pH vodene faze od 2 do 10. Vrednosti $\log D$ se ne menjaju sa promenom pH vodene faze za većinu pesticida, kao što se vidi na slici 2. Vrednosti $\log D$ za karbendazim se povećavaju od $-0,96$ do $1,52$ sa povećanjem pH od 2 do 8, a zatim $\log D$ opada do $1,42$ pri pH 10. Promena $\log D$ karbendazima je u skladu sa izračunatim pK_a vrednostima ($5,66$ i $11,62$). Takođe, manji uticaj pH vrednosti na $\log D$ vidi se kod simazina, atrazina i propazina koji potiče od konstanti disocijacije sa pK_a oko 2. Na slici 2 se vidi da je pri pH vrednostima od 6 do 8, koje odgovaraju pH vrednostima prirodnih voda, koeficijent distribucije maksimalan, osim za karbendazim kod koga je najveća vrednost na pH 8.

Ispitivani pesticidi su različite polarnosti pa korišćenje jednog ekstragena npr. samo nepolarnog ili slabo polarnog organskog rastvarača kao što su cikloheksan, oktanol ili diheksiletar, ne mogu da ekstrahuju sve pesticide istovremeno. Dodatak polarnih ekstragenasa, kao što su TOPO (tri-*n*-oktilfosfin-oksidi), TBP (tri-*n*-butilfosfat) i DEHPA (di(2-etilheksil) fosforna kiselina) povećavaju ekstrakciju polarnih jedinjenja. Na osnovu parametara dobijenih izračunavanjem iz programa ACD/LABS 12 može se zaključiti da bi adekvatna organska faza, s obzirom na karakteristike pesticida, bio TOPO, zato što spada u neutralne ekstragense, a ispitivani polarni pesticidi takođe su neutralni (u nejonizovanom obliku). Kao ekstragens mogao bi se koristiti i TBP, koji je takođe neutralni nosač. DEHPA, koja je kiseli nosač, bi mogla da utiče povoljno samo na ekstrakciju karbendazima koji ima amino grupu sa pK_a oko 5, što je blisko pH vrednostima prirodnih voda. S obzirom na pomenute karakteristike organskih ekstragenasa i ispitivanih pesticida, za dvofaznu membransku ekstrakciju najbolje bi bilo koristiti smešu neutralnog i kiselog ekstragena. Kao rastvarač za sve pomenute nosače (TOPO, TBP,

DEHPA) u membranskoj ekstrakciji najčešće se koristiti slabo polaran diheksil-etar.

ZAKLJUČAK

U ovom radu analizirani su parametri koji utiču na membransku ekstrakciju pesticida iz vode. Pomoću programa ACD/LAB 12 izračunate su pK_a i $\log D$ vrednosti za različite pH vrednosti vodene faze. Pokazano je da su optimalni uslovi za ekstrakciju pesticida na višim pH (6–8) što odgovara pH vrednostima prirodnih voda. S obzirom da su ispitivani pesticidi različite polarnosti, njihove $\log D$ vrednosti su u opsegu od $-0,96$ do $4,38$, za njihovu ekstrakciju je potrebno koristiti smešu neutralnih i kiselih ekstragenasa u slabo polarnom organskom rastvaraču. Treba istaći da je korišćenjem ACD/LAB 12 programa moguće predvideti optimalne uslove za ekstrakciju jedinjenja i tako skratiti vreme i broj eksperimenata, i značajno smanjiti količinu organskih rastvarača.

LITERATURA

- [1] F.E. Ahmed, *Trend. Anal. Chem.* **20** (2001) 649–661.
- [2] F. Hernández, O.J. Pozo, J.V. Sancho, L. Biljsma, M. Berreda, E. Pitarch, *J. Chromatogr. A* **1109** (2006) 242–257.
- [3] R. Romero-González, E. Pastor-Montoro, J.L. Martínez-Vidal, A. Garrido-Frenich, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **20** (2006) 2701–2708.
- [4] List of priority substances in field of water policy and amending, Directive 2000/60/EC, 2455/2001/EC.
- [5] Th. Barri, S. Bergström, J. Norberg, J.Å. Jönsson, *Anal. Chem.* **76** (2004) 1928–1934.
- [6] N. Fontanals, T. Barri, S. Bergström, J.Å. Jönsson, *J. Chromatogr. A* **1133** (2006) 41–48.
- [7] K.E. Rasmussen, S. Pedersen-Bjergaard, *Trend. Anal. Chem.* **23** (2004) 1–10.
- [8] R. Romero, J.F. Liu, P. Mayer, J.Å. Jönsson, *Anal. Chem.* **77** (2005) 7605–7611.
- [9] L.Y. Zhu, K.H. Ee, L.M. Zhao, H.K. Lee, *J. Chromatogr. A* **963** (2002) 335–343.
- [10] M.B. Melwanki, S.D. Huang, *Anal. Chim. Acta* **555** (2006) 139–145.
- [11] T.M. Middelthon-Bruer, A. Gjelstad, K.E. Rasmussen, S. Pedersen-Bjergaard, *J. Sep. Sci.* **31** (2008) 753–759.
- [12] S. Zorita, T. Barri, L. Mathiasson, *J. Chromatogr., A* **1157** (2007) 30–37.
- [13] A. Belmonte-Vega, A. Garrido-Frenich, J.L. Martínez-Vidal, *Anal. Chim. Acta* **538** (2005) 117.
- [14] M. Radišić, S. Grujić, T. Vasiljević, M. Laušević, *Food Chem.* **113** (2009) 712–719.
- [15] J. Liu, L. Toräng, P. Mayer, J. Å. Jönsson, *J. Chromatogr. A* **1160** (2007) 56–63.

SUMMARY**APPLICATION OF ACD/LABS 12 PROGRAM FOR DETERMINATION OF CONDITIONS FOR EXPERIMENTAL MEMBRANE EXTRACTION OF PESTICIDES**Jelena Đorđević¹, Tatjana Trtić-Petrović¹, Ksenija Kumrić¹, Milovan Purenović²¹Laboratory of physics, Institute of Nuclear Sciences "Vinča", Belgrade, Serbia²Faculty of Sciences and Mathematics, Department of Chemistry, University of Niš, Niš, Serbia

(Scientific paper)

This paper analyzes the conditions for membrane extraction of pesticides using ACD/LABS 12 program. The program contains a large database of more than 2000 compounds and their ionized species, for determining the pK_a , further analysis includes 600 new compounds confirmed by Hammett's equation, which gives more precise values for $\log D$ and solubility. The 16 pesticides of different classes (organophosphates, carbamates, carbamidas, neonicotinoids etc.) and polarities commonly used in Serbia were examined. The program is used to calculate $\log D$, pK_a and solubility at different pH values for the mixture of pesticides. Based on the calculated values, the conditions for the extraction of pesticides in water using two-phase liquid-liquid membrane extraction were optimized.

Ključne reči: ACD/LABS 12 • Pesticidi • Membranska ekstrakcija

Key words: ACD/LABS 12 • Pesticides • Membrane extraction