

УДК 621.039.8:631.417.2:632.954

## ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ $^{14}\text{C}$ -2,4-Д ПО МОЛЕКУЛЯРНЫМ ФРАКЦИЯМ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА ПОЧВЫ

К. Ш. ИБРАГИМОВ, Л. Г. КРЕТОВА

(Кафедра прикладной атомной физики и радиохимии)

В статье представлены данные о включении  $^{14}\text{C}$ -2,4Д в гумусовые вещества почвы (применялся метод гель-хроматографии). Эти данные дополняют информацию, полученную при использовании методов экстракции, которые позволяют судить только о полноте выделения пестицидов из почвы.

Любые вещества, поступающие в почву, взаимодействуют с ее различными компонентами, что во многом определяет специфику их дальнейшего поведения в экосистеме: поступление в растения, транспорт, проявление токсичности, разложение и т. д. В связи с этим систематические исследования поведения токсикантов, пестицидов и других веществ в агроэкосистемах предполагают получение сведений о взаимодействии поступающих соединений с различными компонентами почвы, накоплении в ней остаточных количеств токсичных веществ, которое, как правило, происходит при обязательном участии тех или иных специфических почвенных соединений или природных минералов.

Согласно литературным данным, в связывании пестицидов значительная роль принадлежит органическому веществу почвы [4, 6, 8] и прежде всего специфическим гумусовым соединениям. Участие конкретных органических веществ негумусовой природы практически не обсуждалось.

Многими исследователями взаимодействие пестицидов с гумусовыми веществами рассматривается как фактор, резко снижающий скорость разложения препаратов в почвах и способствующий накоплению их остаточных количеств [6, 7, 10, 11].

В большинстве случаев относительно быстрое разложение препарата в почве происходит сразу после его внесения, затем скорость разложения уменьшается. На рис. 1 дана типичная кривая, характеризующая скорость разложения 2,4-Д в песчаной дерново-подзолистой почве.

Нами была предпринята попытка установить, в какой мере резкое замедление разложения препарата начиная с 15—20 сут после внесения в почву связано с его взаимодействиями с гумусовыми веществами и

какие группы гумусовых веществ, различающихся по молекулярным массам, участвуют в этих взаимодействиях.

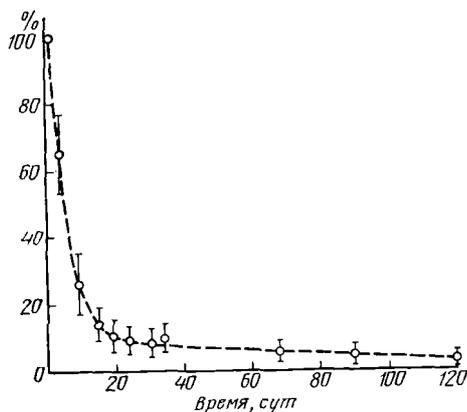


Рис. 1. Скорость разложения (декарбоксилирования)  $^{14}\text{C}$ -2,4Д в почве.

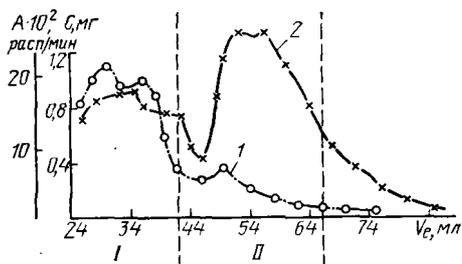


Рис. 2. Гель-хроматографическое разделение (гель G-10) гумусовых веществ (I) и связанных форм  $^{14}\text{C}$ -2,4Д (2)

I — пик с ММ более 700; II — пик с ММ 400—500.

Взаимодействие 2,4-Д и многих других пестицидов с гумусовыми веществами изучалось и ранее. Использование 2,4-Д, 2,4-Т и 5-Т, меченных  $^{14}\text{C}$  в бензольном кольце или в боковой цепи, дало возможность установить, что основная масса остаточного меченого углерода через несколько недель инкубации этих соединений в почве обнаруживается во фракции фульвокислот. Гуминовые кислоты и гумин также содержат остатки меченых веществ, при увеличении продолжительности инкубации доля остатков пестицидов в этих фракциях органического вещества возрастает [3, 4, 9, 12]. Однако такого рода сведения в большинстве случаев получены при использовании методов экстракции и разделения, принятых для гумусовых веществ, и изучении распределения  $^{14}\text{C}$  в различных экстрактах, что нередко затрудняет проведение однозначной оценки действительного взаимодействия 2,4-Д с различными группами органического вещества почв. При таком подходе сам факт взаимодействия не всегда можно выявить.

В основу исследований взаимодействия 2,4-Д с различными группами органического вещества почвы, результаты которых изложены в данной работе, положено гель-хроматографическое разделение гумусовых веществ. Критерием включения  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д (или его меченого метаболита) в состав гумуса является совпадение хроматографических пиков для гумусовых веществ и  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д.

### Методика

Объектом исследования служили образцы песчаной дерново-подзолистой почвы, содержащей около 3 % гумуса. Меченые препараты  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д инкубировали с навесками почвы при температуре 10—15 °С и влажности 20 %. Опыты проводили в 3-кратной повторности. Радиометрические измерения выполняли на жидкостно-сцинтилляционном бета-спектрометре фирмы ЛКБ-Валлак (Финляндия).

В опытах использовали 2,4-Д, меченную  $^{14}\text{C}$  в карбоксильной группе. Поскольку первым этапом деградации 2,4-Д в почве химическим и микробиологическим путем является декарбоксилирование, то образующиеся в процессе ее разложения промежуточные продукты (хлорфенолы, хлоранизола) [4] не будут мечеными и, следовательно, не будут зафиксированы при радиометрических измерениях. Первые этапы трансформации  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д будут сопровождаться выделением  $^{14}\text{CO}_2$ . Таким образом, кривая, представленная на рис. 1, характеризует скорость декарбоксилирования 2,4-Д. Незменность меченого препарата 2,4-Д на различных стадиях наблюдений и анализом подтверждена методом тонкослойной радиохроматографии на пластинках силуфола в системе гексан — эфир — муравьиная кислота [5].

Включение  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д в состав гумусовых веществ исследовали при отборе образцов на 18, 30, 90 и 120-е сутки. Образец почвы обрабатывали дистиллированной водой до

прекращения перехода соединений, содержащих  $^{14}\text{C}$ , в водную вытяжку, затем 5 %  $\text{NH}_4\text{OH}$ , с помощью которого удавалось извлечь из почвы практически все меченое вещество, а также часть гумуса. Нахождение  $^{14}\text{C}$  в составе 2,4-Д подтверждено методом тонкослойной хроматографии.

Аммиачную вытяжку после центрифугирования концентрировали упариванием в 4—5 раз и проводили систематизированное разделение гумусовых веществ по молекулярным массам на гелях G-10 (предел разделения 0—700) и G-50 (предел разделения 500—10 000). В качестве элюента использовали дистиллированную воду. Выходные кривые строили для общего углерода в пробах по окисляемости хромовой смесью и для  $^{14}\text{C}$  радиометрически.

Включение  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д (или его меченых метаболитов) в состав гумусовых веществ фиксировали по четким совпадениям пиков общего углерода и  $^{14}\text{C}$ .

Оценку молекулярных масс выделенных фракций гумусовых веществ проводили по описанной ранее методике [1, 2]. Каждую выделенную фракцию гумусовых веществ, содержащую связанную  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д, упаривали под вакуумом и экстрагировали этиловым эфиром часть 2,4-Д, условно называемую «слабосвязанной». Наличие  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д в эфирном экстракте подтверждалось методом тонкослойной хроматографии. Неэкстрагируемую эфиром из гумуса  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д оценивали как «прочносвязанную».

### Результаты и их обсуждение

На рис. 2 представлены результаты разделения аммиачной вытяжки, содержащей экстрагируемые гумусовые вещества. На хроматограмме имеется пик, соответствующий молекулярной массе 400—500 (около 50 %  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д). Поскольку молекулярная масса 2,4-Д составляет 221, выделенное соединение, вероятно, является продуктом взаимодействия 2,4-Д с какими-либо низкомолекулярными органическими соединениями почвы негумусовой природы. Этот комплекс, возможно,

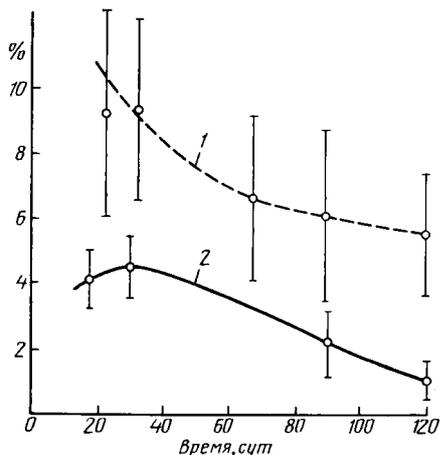


Рис. 3. Изменение скорости разложения (декарбоксилирования) (1) и содержания 2,4-Д, прочно связанной с гумусовыми веществами (2).

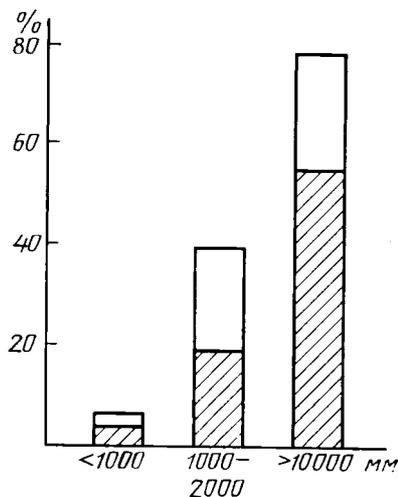


Рис. 4. Распределение  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д, связанной различными молекулярными группами гумусовых веществ, при времени взаимодействия 90—120 сут (незаштрихованная часть — уровень варьирования).

сорбируется минеральной частью, отличается определенной устойчивостью к разложению и переходит в раствор в условиях щелочной среды. Природа этого соединения и характер его закрепления твердой фазой почвы требуют дополнительных исследований.

При дальнейшем разделении на геле G-50 веществ, имеющих молекулярную массу более 700, установлено совпадение пиков отдельных групп гумусовых веществ с  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д, что является прямым свидетельством их взаимодействия. Дальнейшее разделение веществ с молекулярной массой более 10 000 и оценка включения в них  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д невозможны из-за недостаточной удельной активности выделенных препаратов. На рис. 3 показано изменение во времени общего содержания связанной с гумусовыми веществами  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д, соответствующий отрезок кривой характеризует разложение (декарбоксилирование) меченой 2,4-Д.

Максимальное количество  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д, прочно связываемое гумусовыми веществами, невелико, для песчаной дерново-подзолистой почвы оно не превышало 5 % к внесенному количеству. Однако через 20—30 сут после внесения препарата в почву его доля, связанная с гумусовыми веществами, составляла 30—50 % к общему количеству остающегося в почве препарата. Замедленное разложение остаточных количеств 2,4-Д обусловлено в определенной мере прочным связыванием гербицида гумусовыми веществами.

Распределение  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д по отдельным молекулярным фракциям гумусовых веществ отличается существенной вариабельностью. Достоверно увеличилась (рис. 4) только доля участия в связывании  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д фракций гумуса с более высокой молекулярной массой (>10 000). Полученные данные свидетельствуют о значительной роли гумусовых веществ, в частности высокомолекулярных фракций гумуса, в накоплении остаточных количеств 2,4-Д в почвах. В эфирных экстрактах из гумусовых веществ меченые вещества идентифицированы как 2,4-Д.

### Выводы

1. 2,4-Д в целом слабо взаимодействует с твердой фазой почвы, в том числе и с гумусовыми веществами, что является одной из причин быстрого разложения препарата, особенно в начале нахождения его в почве.

2. Максимальное количество 2,4-Д, прочно связанное гумусовыми веществами в условиях песчаной дерново-подзолистой почвы, не превы-

шало 5 % к внесенному. Однако через 20—30 сут после внесения препарата в почву его доля, связанная с гумусом, составляла 30—50 % к общему содержанию остаточных количеств препарата в почве. Замедленное разложение остаточных количеств 2,4-Д обусловлено, по-видимому, прочным связыванием гербицида гумусовыми веществами.

3. При нахождении 2,4-Д в почве в течение 3—4 мес основное участие в связывании 2,4-Д (55—80 %) принимают фракции гумуса с молекулярной массой >5000.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Карпухин А. И., Фокин А. Д. Хроматографическое фракционирование фульвокислот. — Изв. ТСХА, 1969, вып. 5, с. 139—145. — 2. Карпухин А. И., Фокин А. Д. Применение гелевой хроматографии для определения молекулярной массы фульвокислот. — Изв. ТСХА, 1970, вып. 5, с. 131—136. — 3. Кротова Л. Г., Рачинский В. В., Фокин А. Д., Борзилов В. А. Лабораторные и полевые исследования деградации  $^{14}\text{C}$ -2,4-Д в почвах. — Изв. ТСХА, 1984, вып. 6, С. 52—59. — 4. Кротова Л. Г. Влияние органического вещества на поведение пестицидов в почвах. — Агрохимия, 1986, № 10, с. 127—134. — 5. Методы определения пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде/Под ред. М. А. Клисенко — М.: Колос, 1983. — 6. Chassip P., Calvet R. — In: Comportement et effets secondaires des pesticides dans le sol. Paris France (1985), p. 125—133. — 7. Hance R. I. — Soil Biochem., 1974, vol. 6, N 1, p. 39—42. — 8. Khan S. U. — In: Fate of Pollutant in the air and water environments, P 2, N.-Y. etc., 1977, p. 367—369. — 9. Kune F. — In: Stud about humus "Humus et Planta" VII Trans. Int. Symp. Brno, 1979, vol. 1, p. 158—163. — 10. Madhum J. A., Young J. L., Freed U. H. — Environ. Qual., 1986, vol. 15, N 1, p. 64—68. — 11. Saxena A., Barta R. — Bull. Envir. Contam Toxicol., 1983, vol. 30, N 4, p. 485—491. — 12. Smith A. E., Muir D. C. — Weed Research., 1980, vol. 20, N 2, p. 129—133. *Статья поступила 8 мая 1987 г.*

#### SUMMARY

It is found by means of sequential gel-permeating chromatography method that all molecular humus fractions participate in binding  $^{14}\text{C}$ -2,4-D.

On the whole, 2,4-D slightly interacts with the hard soil phase, including humic substances, which is one of the reasons of rapid decomposition of the preparation, especially in initial periods of its being in the soil.

After the preparation had been in the soil for 20—30 days, its portion bound with humus made up 30—50 % of its residual amount in the soil. After 3—4 months in the soil, mainly fractions of humic substances with molecular weight more than 5000 participate in binding 2,4-D.