

◆ 研究与开发 ◆

乙酰甲胺磷酸碱解离常数的测定

方倩园, 宋德安, 孔凡玉*

(中国农业科学院烟草研究所, 山东青岛 266101)

摘要:为指导乙酰甲胺磷的合理使用,测定了乙酰甲胺磷的酸碱解离常数(pK_a),采用紫外分光光度法及A-pH曲线法结合Sigmoidal数理模型拟合分段测定了乙酰甲胺磷的 pK_{a1} 和 pK_{a2} 值,并从分子基团的角度解释其水解特性。根据波长210 nm、217 nm和230 nm不同pH值的乙酰甲胺磷溶液的吸光度,以Sigmoidal数理模型拟合曲线方程,得到乙酰甲胺磷一级解离常数 pK_{a1} 的平均值为7.467 93;选取210 nm处pH值大于9.4的数据进行赋值拟合,得到乙酰甲胺磷二级解离常数 pK_{a2} 为12.778 3。该方法简单快捷、准确高效。

关键词:乙酰甲胺磷;解离常数;紫外分光光度法

中图分类号:TQ 450.1 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2019.06.005

Determination of Dissociation Constant of Acephate

Fang Qian-nan, Song De-an, Kong Fan-yu*

(Tobacco Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shandong Qingdao 266101, China)

Abstract: For guiding the rational use of acephate, the dissociation constant of acephate was determined. The pK_{a1} and pK_{a2} value of acephate were determined by UV spectrophotometry and A-pH curve method combined with Sigmoidal mathematical model. The hydrolysis characteristics were explained from the viewpoint of molecular groups. According to the absorbance of different pH acephate solution at 210 nm, 217 nm, and 230 nm, the average value pK_{a1} 7.467 93, which was obtained through the curve equation fitted by Sigmoidal mathematical model. The pK_{a2} value was 12.778 3, which was obtained by using data of pH over 9.4 at 210 nm fit assignment. The method was proved to be simple, applicable, and easily operated.

Key words: acephate; dissociation constant; UV spectrophotometry

1972年,美国雪佛龙公司研究开发了一种新型有机磷农药——乙酰甲胺磷(acephate),此后,乙酰甲胺磷在世界范围内进行大规模的工业化量产,现已成为世界上销售量最大的十种有机磷农药之一^[1]。作为高毒农药甲胺磷的替代品,乙酰甲胺磷是一种高效、低毒、内吸性强的广谱型杀虫剂,能明显抑制蚜科(烟草蚜虫、小麦芽虫)、鳞翅目(番茄斜纹夜蛾、棉花棉铃虫、茶树茶尺蠖、玉米螟)、膜翅目(杜鹃三节叶蜂、黄连木种子小蜂)等害虫对农作物的危害^[2-3]。乙酰甲胺磷纯品的大鼠急性经口半数致死量为823 mg/kg,工业品的大鼠急性经口半数致死量

为945 mg/kg,其毒性仅为甲胺磷的1/50^[4]。

酸碱解离常数(pK_a)又称解离平衡常数,定义为在一定温度下弱电解质达到电离平衡状态时,已解离的离子浓度的乘积与未解离分子浓度的比值。酸碱解离常数是与农药溶解度和pH值密切相关的理化常数,也是探究农药酸碱性等理化性质的重要信息^[5-6],在评价其对环境 and 人体健康的影响方面具有十分重要的意义。测定化学物质解离常数的方法目前主要有以下几种:①紫外分光光度法;②电泳法;③荧光法;④电导率法;⑤电位滴定法。紫外分光光度法操作简单、方便快捷,精密度高且重现性

收稿日期:2019-05-07

基金项目:中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-TRIC06)

作者简介:方倩园(1993—),女,济南市人,硕士,主要从事农产品质量安全研究。E-mail:fangqiannan1993@163.com

通信作者:孔凡玉(1969—),男,山东省青岛市人,硕士,研究员,主要从事植物保护和农产品质量安全研究。E-mail:kongfanyu123@163.com

好,后期数据处理方便,特别适用于弱酸(碱)性物质解离常数的测定。

本实验根据紫外分光光度法测定解离常数(pK_a)的原理,首次采用紫外分光光度法及A-pH曲线法结合Sigmoidal数理模型拟合分段测定了乙酰甲胺磷的 pK_{a1} 和 pK_{a2} 值,并从分子基团的角度解释其水解特性,对指导乙酰甲胺磷的合理使用,评价其环境安全性以及减少对环境的负面效应具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验原理

水溶性农药在水溶液体系中可以发生电离,以弱酸类农药HZ为例,将HZ溶解到水中,形成HZ稳定水溶液,HZ在水中达到电离平衡状态 $HZ=H^++Z^-$,因此HZ在水溶液中解离常数 $K_a=\frac{[H^+][Z^-]}{[HZ]}$,此等式两边同时取负对数,得到酸碱解离常数计算公式。

$$\frac{A_{obs}-A_{base}}{A_{acid}-A_{obs}} = \frac{(\varepsilon_{acid}C_{acid}-\varepsilon_{base}C_{base})-\varepsilon_{base}C}{\varepsilon_{acid}C-(\varepsilon_{acid}C_{acid}+\varepsilon_{base}C_{base})} = \frac{\varepsilon_{acid}C_{acid}-\varepsilon_{base}C_{acid}}{\varepsilon_{base}C_{acid}-\varepsilon_{base}C_{acid}} = \frac{C_{acid}(\varepsilon_{base}-\varepsilon_{acid})}{C_{base}(\varepsilon_{base}-\varepsilon_{acid})} = \frac{C_{acid}}{C_{base}}$$

将 $\frac{C_{acid}}{C_{base}} = \frac{A_{obs}-A_{base}}{A_{acid}-A_{obs}}$ 代入(1)式,即可得到式(2)。

$$pK_a = pH + \lg \frac{A_{obs}-A_{base}}{A_{acid}-A_{obs}} \quad (2)$$

根据式(2)即可计算出农药的 pK_a 值^[7]。

1.2 实验试剂与仪器

SPECORD200型紫外分光光度计,德国耶拿分析仪器股份公司;PHS-3C酸度计,上海雷磁仪器厂,使用前在pH值4.00、6.86和9.18处校准;乙酰甲胺磷(纯度99%),KOH、HCl和KCl均为分析纯,北京国药化学试剂有限公司,实验用水为蒸馏水。

1.3 实验方法

乙酰甲胺磷溶液的配制:称取乙酰甲胺磷原药0.0183g,置于100mL容量瓶中,加入蒸馏水溶解并定容,即得到浓度为1mmol/L的乙酰甲胺磷溶液。

缓冲溶液:0.1mol/L HCl与0.1mol/L NaOH溶液按不同的比例进行混合,制备成pH值为2.87~8.12的一系列溶液,加入乙酰甲胺磷溶液中,并加入2mol/L KCl溶液0.25mL控制离子强度。

分别将不同pH值的乙酰甲胺磷溶液置于1cm吸收池中,以对应的pH值溶液做空白对照,在210~250nm波长范围内扫描,得到不同pH值的乙酰甲胺磷溶液的紫外吸收光谱。选择合适波长处测定不同pH值的乙酰甲胺磷溶液的吸光度值,利用Origin 9.0

$$pK_a = pH + \lg [HZ][Z^-] \quad (1)$$

式中HZ为共轭酸,Z⁻为共轭碱。

紫外分光光度法测定农药的 pK_a 具有一定条件要求:首先HZ和Z⁻均有紫外吸收,用紫外分光光度计可以测得具体数值;另外在同一酸碱条件下HZ和Z⁻的紫外吸收光谱呈现出明显的差异性。实际测定时,配置一系列浓度相等的农药水溶液,通过酸碱溶液KOH和HCl调节以上溶液体系的pH值:①将一部分农药溶液pH值调节到7左右,让溶液中的农药以HZ和Z⁻两种形式存在;②用HCl将另一部分农药溶液pH值调节至酸性条件,此时水溶液中的农药主要以HZ的形式存在;③用KOH将另一部分农药溶液pH值调节至碱性条件,此时水溶液中的农药主要以Z⁻的形式存在。设农药的浓度为C,溶液中HZ的浓度为 C_{HZ} ,Z⁻的浓度为 C_{Z^-} 。 A_{base} 是碱性条件下的吸光度, A_{acid} 是酸性条件下的吸光度, A_{obs} 是中性条件下的吸光度。如果HZ与Z⁻的紫外吸收均符合吸收定律,那么:

软件拟合曲线求出乙酰甲胺磷的解离常数^[8]。

2 结果与分析

2.1 测定波长的选定

图1为不同pH值条件下乙酰甲胺磷溶液的210~250nm紫外吸收光谱图,可以看出pH值为2.21~4.98的溶液的紫外吸收光谱基本重合,可以认为pH值在4.98以下,乙酰甲胺磷基本上以分子形式存在;pH值为9.61~12.13的缓冲溶液的紫外吸收光谱基本重合,可以认为pH值在9.61以上,乙酰甲胺磷基本上以离子形式存在;pH值为4.98~9.61,乙酰甲胺磷一部分以分子状态存在,一部分以离子状态存在。

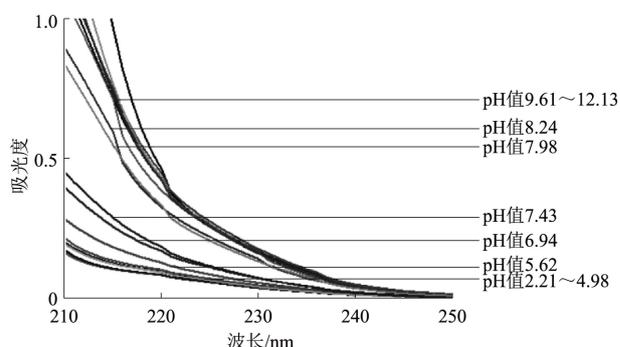


图1 乙酰甲胺磷在不同pH值的缓冲溶液中的紫外吸收光谱
乙酰甲胺磷在波长210nm、217nm和230nm处

随pH值的变化,曲线呈现规律性变化,因此可以选择这3个波长作为测定波长。

将210 nm、217 nm和230 nm波长处不同pH值下乙酰甲胺磷溶液的吸光度绘制成图2,于210 nm和217 nm处可以观测曲线有3个拐点,所以乙酰甲胺磷有2个 pK_a 值。

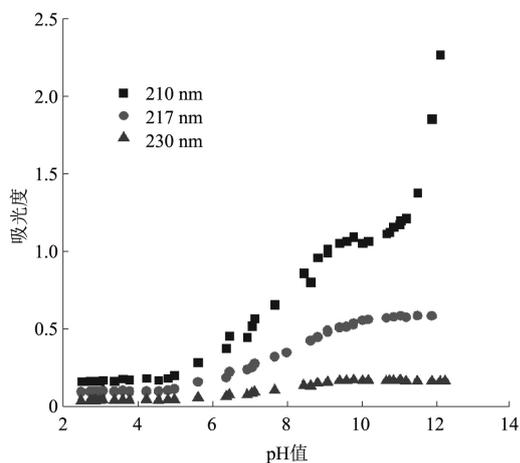


图2 3个波长下不同pH值的乙酰甲胺磷溶液的吸光度

2.2 乙酰甲胺磷一级解离常数(pK_{a1})的测定

由图2可知,乙酰甲胺磷有2个 pK_a 值。根据3个波长下不同pH值的乙酰甲胺磷溶液的吸光度,利用Origin 9.0软件以pH值为横坐标,以不同pH值对应的吸光度值为纵坐标,以Sigmoidal数理模型拟合曲线方程,求得 pK_a 。

对于 pK_{a1} 拟合曲线方程:

$$y = \frac{A_{\text{base}} 10^{(x-pK_a)} + A_{\text{acid}}}{1 + 10^{(x-pK_a)}}$$

其中 A_{base} 、 A_{acid} 、 x 都在图2中可知,将数据输入拟合曲线方程中,利用Origin 9.0分析可得乙酰甲胺磷的解离常数 pK_{a1} 。根据图2,选择3个波长处的pH值为2~12的吸光度值进行Sigmoidal数理模型拟合,得到图3、图4和图5。

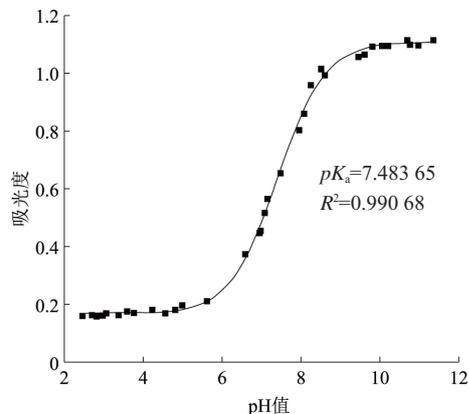


图3 波长210 nm处 Sigmoidal 数理模型拟合 A-pH 曲线

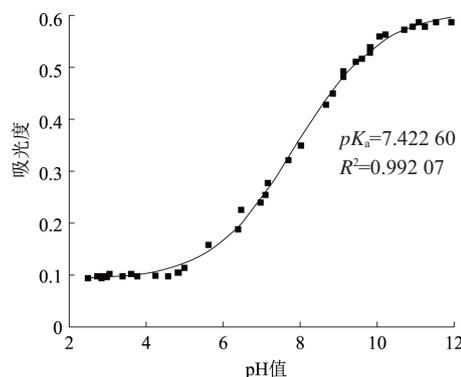


图4 波长217 nm处 Sigmoidal 数理模型拟合 A-pH 曲线

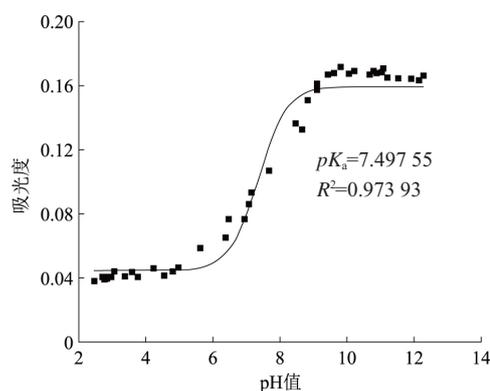


图5 波长230 nm处 Sigmoidal 数理模型拟合 A-pH 曲线

由图3、图4和图5模拟分析结果可得,当波长为210 nm时, pK_{a1} 值为7.48365,相关系数为0.99068;当波长为217 nm时, pK_{a1} 值为7.42260,相关系数为0.99207;波长为230 nm时, pK_{a1} 值为7.49755,相关系数为0.97393;所得的 pK_{a1} 值比较可靠。求得乙酰甲胺磷解离常数的平均值 pK_{a1} 为7.46793。

2.3 乙酰甲胺磷二级解离常数(pK_{a2})的测定

对于 pK_{a2} ,由于pH值大于12.5的数值难以在实验条件下测得,所以曲线采用赋值测试的方法进行拟合。选取210 nm处pH值大于9.4的数据进行赋值拟合,设初始值 $A_{\text{acid}}=1$, $A_{\text{base}}=3$,曲线拟合结果见图6。

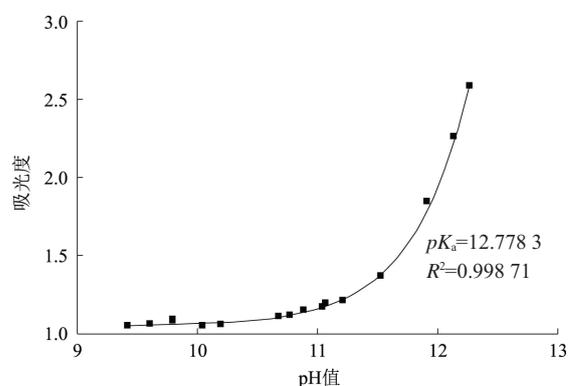


图6 波长210 nm处 Sigmoidal 数理模型拟合 A-pH 曲线

由图6模拟分析结果可得,在pH值为9.5~12.5时,波长为210 nm时 pK_{a2} 值为12.778 3,相关系数为0.998 71。

2.4 理论分析乙酰甲胺磷解离常数的合理性

乙酰甲胺磷的水解位点见图7。乙酰甲胺磷的分子结构中存在3个可能的水解位点,包括磷酸基、仲氨基、羰基。其中对于仲氨基来说,其具有较多的取代基,在诱导效应与位阻效应的双重作用下,较难发生水解。因此,仲氨基的水解常数一般在10以上。这与本实验中 pK_{a2} 值为12.778 3的结果基本吻合,故可以推测乙酰甲胺磷的第2个水解常数应发生在仲氨基。比较而言,磷酸基较易发生水解反应,且一般在中性pH值附近,因此可将乙酰甲胺磷的第1个水解常数(pK_{a1} 值为7.467 93)归因于磷酸基的水解过程^[9]。而对于羰基,其孤对电子难以与质子发生结合,因此可以认为在本实验的pH值范围内不发生水解反应^[10-11]。

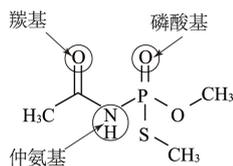


图7 乙酰甲胺磷的水解位点

3 结论

本研究采用紫外分光光度法及A-pH曲线法结合Sigmoidal数理模型拟合分段测定了乙酰甲胺磷的解离常数,测得乙酰甲胺磷的一级(pK_{a1})、二级(pK_{a2})解离常数分别为7.467 93、12.778 3。

本实验选取了3个测定波长210 nm、217 nm和230 nm,分别计算在这3个波长下乙酰甲胺磷的解离常数。这3个波长下经绘图软件拟合的曲线相关系数均大于0.95,测定结果可靠。

乙酰甲胺磷的分子结构中存在3个可能的水解位点:磷酸基、仲氨基和羰基。仲氨基的水解常数在10以上,这与本实验中的 pK_{a2} 值为12.778 3的结果基本吻合,磷酸基较易在中性pH值附近发生水解反应,因此可与乙酰甲胺磷的一级解离常数(pK_{a1} 值为7.467 93)相对应。

参考文献

[1] Tripathi S M, Thaker A M, Joshi C G, et al. Acephate Immunotoxicity in White Leghorn Cockerel Chicks upon Experimental Exposure [J]. Environmental Toxicology & Pharmacology, 2012,

34 (2): 192-199.

- [2] Prabhavathy D, Abjal P S, Kaiser J P D. Cytotoxicity and Genotoxicity Induced by the Pesticide Acephate on Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes [J]. Internet Journal of Toxicology, 2007, 5 (2): 1-6.
- [3] Bouchard, M. Biological Monitoring of Exposure to Organophosphorus Insecticides in a Group of Horticultural Greenhouse Workers [J]. Annals of Occupational Hygiene, 2006, 50 (5): 505-515.
- [4] 黄幸经,徐惟安,祝慧娟,等.乙酰甲胺磷毒性初步研究 [J].浙江医科大学学报,1982(增刊2):332.
- [5] Jover J, Bosque R, Sales J. QSPR Prediction of pK_a for Benzoic Acids in Different Solvents [J]. Qsar & Combinatorial Science, 2008, 27 (5): 563-581.
- [6] Senior S A, Nassar A M. Determination of pK_a for Substituted Benzoic Acids in Mixed Solvent Using Density Functional Theory and QSPR [J]. International Journal of Quantum Chemistry, 2015, 112 (3): 683-694.
- [7] 宋亚林,普俊学,张伟,等.紫外分光光度法测定芒果苷元的解离常数 [J].云南中医学院学报,2014,37(5):20-23.
- [8] 朱海涛,陈少秀,蔡华,等.Origin软件在药学研究数据作图中的应用 [J].医药导报,2008,27(9):1089-1091.
- [9] Cantu M D, Hillebrand S, Carrilho E. Determination of the Dissociation Constants (pK_a) of Secondary and Tertiary Amines in Organic Media by Capillary Electrophoresis and Their Role in the Electrophoretic Mobility Order Inversion [J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1068 (1): 99-105.
- [10] Sun F H, Long Y Z, Zhou X Y, et al. Acid Dissociation Constants and Cytotoxicity Test of a Series of Omega aminoalkyl Phosphates [J]. Chinese Chemical Letters, 2016, 27 (9): 1523-1530.
- [11] Chiang Y, Hojatti M, Keeffe J R, et al. Vinyl alcohol. Generation and Decay Kinetics in Aqueous Solution and Determination of the Tautomerization Equilibrium Constant and Acid Dissociation Constants of the Aldehyde and Enol Forms [J]. Journal of the American Chemical Society, 1987, 109 (13): 4000-4009.

(责任编辑:范小燕)

扫一扫下方二维码



微信号: M-pesticide-E
 公众号: 现代农药
 QQ: 906491600
 电话: 025-86581148
 传真: 025-86581147
 网址: www.agroinfo.com.cn