

**И.М. Мага**

## **ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРВИЧНЫХ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОВ В ВИДЕ АЗОПРОИЗВОДНЫХ В ПРИСУТСТВИИ В ВОДАХ ОДНОАТОМНЫХ ФЕНОЛОВ**

*Используя различие в кислотно-основных свойствах диазоаминосоединений, *n*-аминоазосоединений и азофенолов, разработан хроматографический метод определения аминов после предварительного выделения последних термokonцентрированием в виде солей. Метод позволяет проводить определение аминов на уровне 6 – 8 мкг/дм<sup>3</sup>. Методика апробирована на фортифицированных модельных растворах и на реальном объекте.*

**Ключевые слова:** азопроизводные, одноатомные фенолы, первичные ароматические амины, хроматографическое определение.

**Введение.** В связи с расширением ассортимента и возрастающим объёмом применения пестицидов в практике защиты сельхозкультур от сорняков, вредителей и болезней, а также существующей проблемой загрязнения окружающей среды [1] необходим контроль остаточных количеств пестицидов и продуктов их трансформации [2] в природных средах [3], особенно в водах [4, 5]. Первичные ароматические амины являются продуктами биodeградации действующих веществ (д.в.) многих пестицидов [6, 7]. Так, например, 3,5-дихлоранилин образуется при биоразложении ипродиона [8], хлозолината (дихлозолината) [9], винклозолина [10], процимидона [11]. Пропанил, линурон, диурон метаболизируются до 3,4-дихлоранилина [12], дифлубензурон – до *n*-хлоранилина [13], хлоротолурон – до 3-метил-4-хлоранилина [14, 15] и др.

Известна методика определения диаминов толуола методом капиллярного электрофореза с пределом обнаружения (ПрО) 1 мкг/дм<sup>3</sup> [16]. Первичные амины находят при помощи реакции дериватизации с дансилхлоридом в виде флуоресцентного производного. Анализ выполняют методом ВЭЖХ – электроспрей-ионизации – масс-спектрометрии (HPLC/ESI/MS); ПрО – 0,03 мкг/дм<sup>3</sup> [17]. В воде первичные амины связываются с пенополиуретаном, образуя азосоединения. Их также определяют указанным методом; ПрО – в диапазоне 0,27 – 3 мкг/дм<sup>3</sup> амина [18]. При дериватизации первичных ароматических аминов *N*-аллил-*N'*-арилтиомочевинной образуются арилтиоцианаты, которые подвергаются пиролизу при повышенной температуре инжектора. Продукты пиролиза определяют методом газовой хроматографии – масс-спектромет-

© И.М. МАГА, 2011

рии (GC/MS), амины – в диапазоне 0,5 – 50 мкг/дм<sup>3</sup> [19]. Первичные амины в воде дериватизируют трифторацетангидридом и определяют в виде производных методом GC/MS; ПрО – 0,1 – 0,4 мкг/дм<sup>3</sup> [20]. При определении первичных аминов обращенно-фазовой ВЭЖХ чувствительность метода составляет от 0,2 до 0,6 мкг/дм<sup>3</sup> [21]. Методом проточно-инжекционного анализа определяют первичные амины в линейном диапазоне 4 – 40 мкг/см<sup>3</sup>; ПрО – 1 мкг/см<sup>3</sup> [22].

Однако указанные методы определения требуют дорогостоящего аппаратного оформления, сложны в выполнении, в их реализации используют специфические и малодоступные дериватирующие реагенты. Последние два метода – ВЭЖХ и проточно-инжекционный анализ – недостаточно чувствительны.

Поскольку катион диазония взаимодействует не только с первичными ароматическими аминами, но и с рядом других органических соединений, имеющих подвижный атом водорода [23 – 25], целесообразно было разработать метод определения аминов в присутствии одноатомных фенолов. В качестве дериватирующего реагента использовали диазотированный 4-нитроанилин.

Цель данной работы – использование реакции дериватизации первичных ароматических аминов с 4-нитрофенилдиазонием для разработки чувствительной методики их определения в виде азопроизводных в присутствии фенолов.

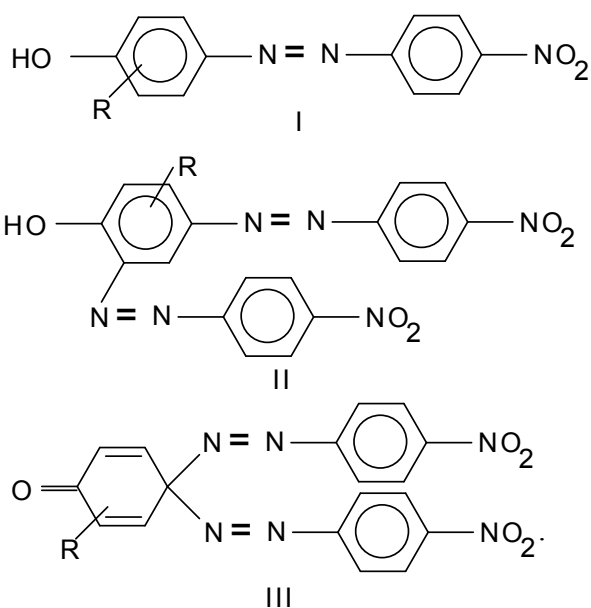
**Реагенты и растворы.** Рабочие растворы аминов ( $4,5 \cdot 10^{-3}$  М) готовили растворением точных навесок соединений в 0,1 М хлористоводородной кислоте (х.ч.). Растворы более низких концентраций готовили разбавлением исходных в бидистиллированной воде. Рабочие растворы фенола (х.ч.) при концентрации 50 мг/дм<sup>3</sup> и *m*-крезола ("х.ч.") – при той же концентрации готовили растворением точных навесок в бидистиллированной воде. Дериватирующий реагент – 4-нитрофенилдиазоний в виде тетрафторборатной соли (НФДТ) синтезировали согласно [23]. Значение pH устанавливали раствором хлористоводородной кислоты (1 М) и гидроксида калия (натрия) (1 М). Применяли фосфатный буфер (0,1 М), pH ~ 8,1. Все используемые растворители были квалификации "х.ч." Значение pH измеряли с помощью pH-метра ЭВ-74. Светопоглощение растворов определяли на спектрофотометре Perkin-Elmer UV/Vis Lambda 3В (США).

Жидкостно-хроматографические исследования проводили на хроматографе фирмы "Perkin-Elmer S 10 LG" (США) с спектрофотометрическим детектором (колонка стальная (250×4,6 мм), заполнена фазой "Силасорб С18") в режиме изократического элюирования подвижной фазой состава ацетонитрил: вода (70 : 30). Скорость подачи – 1 см<sup>3</sup>/мин.

Кроме того, исследования проводили также на хроматографе Waters Nova-Pak, используя колонку С18 (150×2,1 мм), при градиентном элюи-

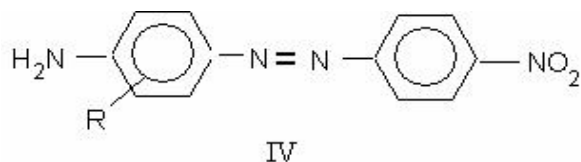
ровании в системе ацетонитрил : вода. Применяли линейный градиент от 50% ацетонитрила (исходный состав) до 90% в течение 10 мин, расход элюента – 0,25 см<sup>3</sup>/мин. Длину волны спектрофотометрического детектора устанавливали в диапазоне 350 – 450 нм. В этом диапазоне находятся длинноволновые максимумы поглощения всех зарегистрированных азопроизводных. Хроматографические результаты обрабатывали с помощью программ "Мультихром" и "Millenium".

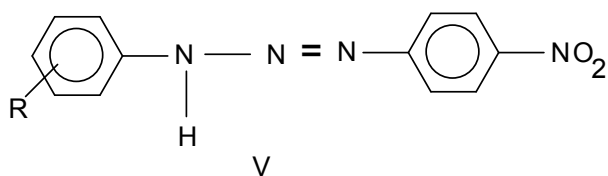
Известно [4], что одноатомные фенолы с катионом диазония образуют азосоединения I, II и III [5]:



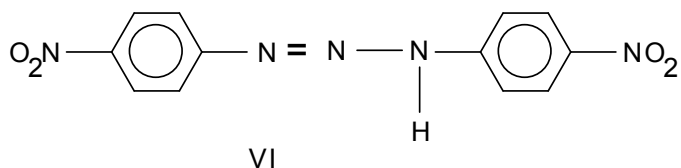
Фенольная группа является ориентантом первого рода в реакциях электрофильного замещения в ароматическом ядре. В щелочной среде при pH > 10 образуются *p*- (I) и *o*-, *n*-азосоединения (II), при pH 8 –  $\sigma$ -комплексы (III) [26].

В случае аминов имеет место образование *n*-аминоазосоединений (IV) и триазенов (V) [27], а также продуктов взаимодействия *n*-аминоазосоединений (IV) с 4-нитрофенилдиазонием с образованием бисазопроизводных:





В апротонных растворителях образуется продукт передиазотирования триазена (VI) [28]:



При этом необходимо отметить, что в оптимальных условиях образования азодериватов аминов одноатомные фенолы на 60% связываются в соединение I, образование соединений II и III – незначительное (требует длительного времени) [29].

Предварительные опыты показали, что если изменение концентрации водородных ионов в широком интервале pH (6,5 – 8,8) незначительно влияет на выход азосоединений аминов, то природа органического растворителя оказывает огромное влияние на соотношение соединений IV – VI.

Так, в среде апротонных растворителей (ацетонитрил, ацетон, диметилформамид) равновесие смещается в сторону формы VI. В среде протонных растворителей (формамид, спирты) доминируют триазены аминов V, а также незначительное количество соединений IV и VI. Соотношение между IV и VI зависит как от электронодонорных свойств заместителя R в азосоставляющей, так и от положения R (в случае *n*-замещённых аминов соединения IV и VI отсутствуют).

Данные, приведенные на рис. 1, указывают на мешающее влияние одноатомных фенолов при определении первичных аминов на примере модельных растворов азодериватов фенолов и первичных ароматических аминов. Практически мешающее влияние сопутствующих компонентов устраняется на стадии подготовки образца к анализу. В случае аминов и фенолов следует отметить метод их отгонки из пробы (рис. 2). При этом, проводя отгонку из растворов с pH < 3, можно вначале отогнать фенолы, а затем, повышая pH > 10, – амины. Однако более селективным является предложенный метод в одну стадию: раствор подкисляют до pH ~ 2 и в фарфоровой чашке на песчаной бане его осторожно упаривают досуха. При этом фенолы удаляются с водяным паром, а амины остаются в виде солей. Оставшиеся фенолы удаляются при прогревании сухой чашки (сублимация). Далее к сухому остатку прибавляют буфер, переводя амин в молекулярную форму, и проводят определение.

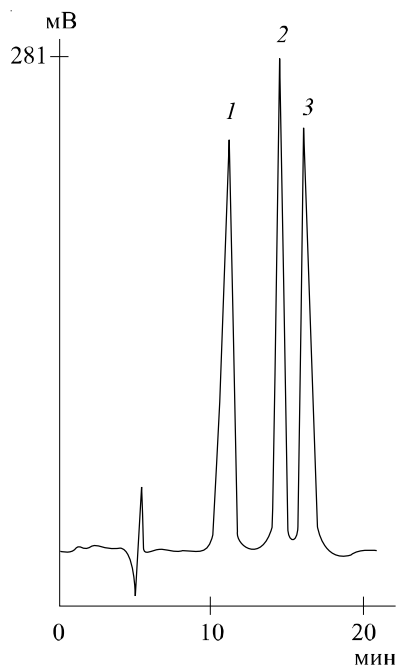


Рис. 1. Хроматограмма модельных растворов азофенолов и азосоединений аминов: 1 – азодериват фенола и анилина; 2 – триазен анилина и азодериват м-крезола; 3 – азодериват о-крезола. Подвижная фаза метанол:вода – 75:25. Скорость подвижной фазы – 0,3 см<sup>3</sup>/мин,  $\lambda = 389$  нм

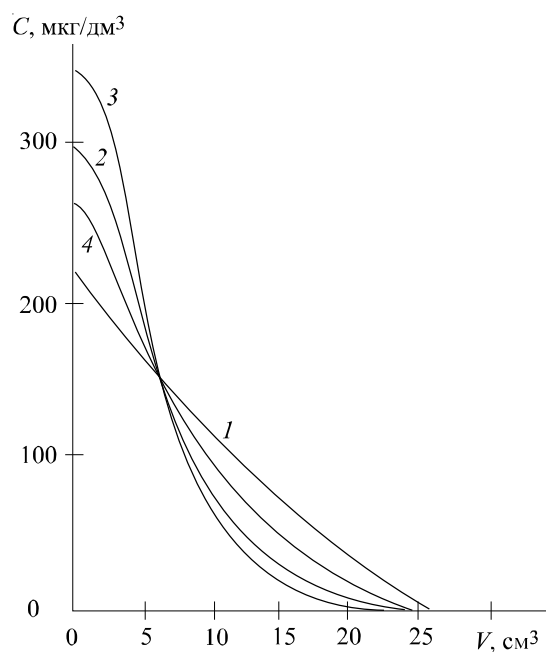


Рис. 2. Процесс отгонки летучих соединений: 1 – фенола; 2 – анилина; 3 – о-толуидина; 4 – п-броманилина

Предлагаемый метод позволяет проводить одновременно устранение мешающего влияния фенолов, а также концентрирование аминов. На рис. 3 приведены типичные хроматограммы азосоединений.

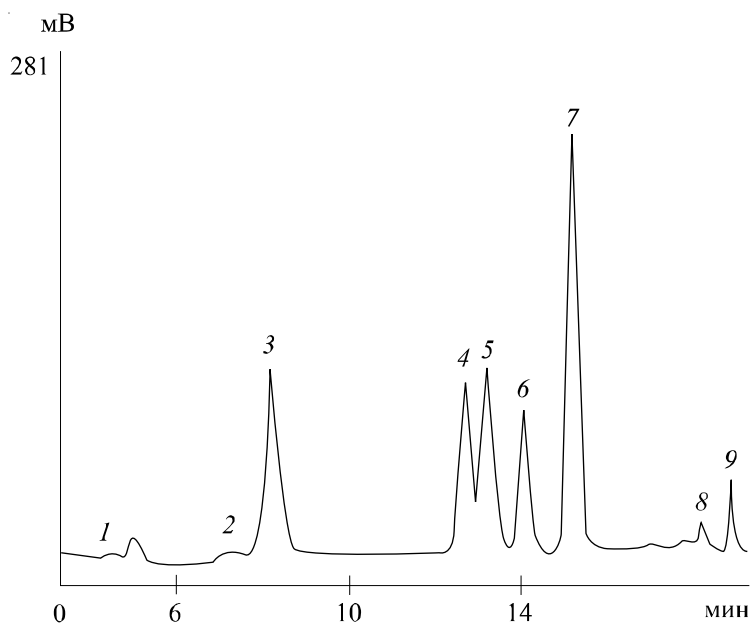


Рис. 3. Хроматограмма азопроизводных смеси ароматических аминов: 1 – *p*-аминоазосоединение анилина; 2 – *p*-аминоазосоединение *o*-толуидина; 3 – триазен анилина; 4 – триазены *m*-, *p*-толуидинов; 5 – триазен *o*-толуидина; 6 – триазен *p*-хлоранилина; 7 – триазен *p*-броманилина; 8 – бисазопроизводное *p*-аминоазосоединения анилина; 9 – бисазопроизводно *p*-аминоазосоединения *o*-толуидина. Колонка Nova-Pak C18 (150x2,1) мм, градиентное элюирование в системе вода:ацетонитрил, расход элюента – 0,25 см<sup>3</sup>/мин,  $\lambda = 390$  нм

На основании проведенных исследований разработана методика определения аминов в присутствии фенолов.

**Методика эксперимента.** В фарфоровую чашку вместимостью 100 см<sup>3</sup> помещают 25 см<sup>3</sup> исследуемого раствора, который содержит 10÷1000 мкг/дм<sup>3</sup> ароматического амина, до 50 мг/дм<sup>3</sup> фенола и 50 мг/дм<sup>3</sup> *m*-крезола. Раствор подкисляют до pH 2 раствором HCl (1M), выпаривают досуха на песчаной бане. После упаривания чашку прогревают в течение 15 мин при 90 – 100°C. После охлаждения ее ополаскивают 5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, которая содержит 5% фосфатного буфера. Раствор переносят в мерную колбу на 10 см<sup>3</sup>, добавляют 0,3 см<sup>3</sup> формамида, перемешивают, добавляют 0,3 см<sup>3</sup> фосфатного буферного раствора и 0,4 см<sup>3</sup> водного раствора НФДТ и снова перемешивают. Через три мину-

ты доводят содержимое колбы этанолом до метки и перемешивают, охлаждают, вновь доводят этанолом до метки и перемешивают. Полученный раствор хроматографируют в описанных выше условиях.

**Результаты и их обсуждение.** В данных условиях достигается разделение триазенов анилина, *n*-толуидинов и 4-броманилинов. Чувствительность определения каждого ароматического амина составляет 6 – 8 мкг/дм<sup>3</sup>, при необходимости её можно увеличить, используя экстракционный метод концентрирования азопроизводного. Линейный диапазон соблюдается в пределах 10 – 1000 мкг/дм<sup>3</sup>. Точность и достоверность определения первичных ароматических аминов проверена методом "введено – найдено". Методика также апробирована при анализе сточной воды из села Сянки Турковского района Львовской области на содержание 3,5-дихлоранилина после применения препарата Ровраль Фло фирмы "Bayer CropScience", д.в. ипродион (таблица).

*Результаты определения аминов в присутствии в модельных растворах и сточной воде 500 мг/дм<sup>3</sup> фенола и 500 мг/ дм<sup>3</sup> м-крезола (n = 25; P = 0,95)*

Амин	Введено *	Найдено	S <sub>r</sub>
	мкг/см <sup>3</sup>		
Анилин	30,0	29,8 ± 0,3	0,032
	45,0	45,2 ± 0,3	0,023
	80,0	79,7 ± 0,5	0,022
<i>n</i> -Броманилин	25,0	24,9 ± 0,3	0,025
	50,0	50,3 ± 0,4	0,021
3,5-Дихлоранилин**	–	17,6 ± 0,3	0,033

\*Без учёта концентрирования азосоединений, \*\*продукт биodeградации фунгицидного препарата Ровраль Фло, д.в. ипродион.

**Выводы.** Итак, разработанная методика определения первичных ароматических аминов в присутствии фенолов методом ВЭЖХ является достаточно чувствительной, надёжной, простой в исполнении и пригодна для применения в контроле загрязнения сточных вод первичными аминами.

**Резюме.** Розроблено хроматографічний метод визначення первинних амінів у водах в присутності одноатомних фенолів після попереднього виїлення амінів термоконцентруванням у вигляді солей і їхньої азодериватизації. Метод дозволяє проводити визначення амінів на рівні 6 – 8 мкг/дм<sup>3</sup>, використовуючи відмінності в кислотно-основних властивостях діазоаміносполук, *n*-аміноазосполук і азофенолів. Методика апробована на фортифікованих модельних розчинах та на реальному об'єкті.

*I.M. Maga*

### **METHOD OF PRIMARY AMINES AS AZO DERIVATIVES DETERMINATION AT THE PRESENCE OF ONE ATOMIC PHENOLES IN WATERS**

#### Summary

Method of primary amines determination at the presence of one atomic phenoles in waters by chromatography was elaborated. It utilizes their termally pre-concentrated salts to produce detectable azoderivates in chromathographic. It is based on differencies in acidic and basic properties of diazo compounds, para-amino azo compounds and azo phenols. The method allowed amines determination in range 6 – 8 μg/dm<sup>3</sup> and was tested on fortified model solutions and on real object.

1. *Rampfl M., Mair S., Mayer F., Sedlbauer K., Breuer K., Niessner R.*//*Environ. Sci. and Technol.* – 2008. – **42**, N14. – P. 5217 – 5222.
2. *Carrier M., Besson M., Guillard C., Gonze E.* // *Appl. Catalys.* – 2009. – **91**, N 1/2. – P. 275 – 283.
3. *Valentovic M.A., Rogers B.A., Meadows M.K., Conner J.T., Williams E., Hong S.K., Rankin G.O.* // *Toxicol.* – 1997. – **118**, N 1. – P. 23 – 36.
4. *Voelker D., Stetefeld N., Schirmer K., Scholz S.* // *Aquat. Toxicol.* – 2008. – **86**, N 1. – P. 112 – 120.
5. *Vighi M., Gramatica P., Consolaro F., Todeschini R.* // *Ecotoxicol. and Envi ron. Safety.* – 2001. – **49**, N 3.– P. 206 – 220.
6. *Maund S., Biggs J., Williams P., Whitfield M., Sherratt T., Powley W.* // *Pest Manag. Sci.* – 2009. – **65**, N 6. – P. 678 – 687.
7. *Albers C.N., Banta G.T., Hansen P.E., Jacobsen O.S.* // *Environ. Sci. and Technol.* – 2008. – **42**, N 23. – P. 8687 – 8691.
8. *Cabras P., Diana P., Meloni M.* // *J. Chromatogr.* – 1983. – **256**, N 1. – P. 176 – 181.
9. *Zadra C., Cardinali G., Corte, L., Fatichenti F., Marucchini C.* // *J. Agric. Food Chem.* – 2006. – **54**, N 13. – P. 4734 – 4739.



10. Lee J.-B., Sohn H.-Y., Shin K.-S., Kim J.-S., Jo M.-S., Jeon C.-P., Jang J.-O., Kim J.-E., Kwon G.-S. // J. Microbiol. Biotechnol. – 2008. – **18**, N 2. – P. 343 – 349.
11. Jimenez J.J., Bernal J.L., Del Nozal M.J., Arias E., Bernal J. // Rapid Commun. Mass Spectr. – 2004. – **18**, N 6. – P. 657 – 663.
12. Stasinakis A.S., Kotsifa S., Gatidou G., Mamais D. // Water Res. – 2009. – **43**, N 5. – P. 1471 – 1479.
13. Bo Z., Sen L. // Biomed. and Environ. Sci. – 2009. – **22**, N 1. – P. 40 – 43.
14. Scheil V., Kienle C., Osterauer R., Gerhardt A., Kohler H.-R. // Ecotoxicol. – 2009. – **18**, N 3. – P. 355 – 363.
15. Badawi N., Ronhede S., Olsson S., Kragelund B.B., Johnsen A.H., Jacobsen O.S., Aamand J. // Environ. Pollut. – 2009. – **157**, N 10. – P. 2806 – 2812.
16. Wang X., Chen Y. // J. Chromatogr., A. – 2009. – **1216**, N 43. – P. 7324 – 7328.
17. Fournier M., Lesage J., Ostiguy C., Van Tra, H. // J. Environ. Monitor. – 2008. – **10**, N 3. – P. 379 – 386.
18. Mortensen S.K., Trier X.T., Foverskov A., Petersen J.H. // J. Chromatogr., A. – 2005. – **1091**, N 1/2. – P. 40 – 50.
19. Singh V., Gupta M., Jain A., Verma K.K. // Ibid. – 2003. – **1010**, N 2. – P. 243 – 253.
20. Brede C., Skjeverak I., Herikstad H. // Ibid. – 2003. – **983**, N 1/2. – P. 35 – 42.
21. Gennaro M.C., Marengo E., Gianotti V., Angioi S. // Ibid. – 2002. – **945**, N 1/2. – P. 287 – 292.
22. Johansen G., Grini K., Langseth-Manrique K., Karstensenb K.H. // Talanta. – 1996. – **43**, N 6. – P. 951 – 955.
23. Коренман И.М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. – М.: Химия, 1970. – 344 с.
24. Березин Б.Д., Березин Д.Б. Курс современной органической химии. – М.: Высш. шк., 2003. – 768 с
25. Починок В.П. Триазены. – К.: Київ. держ. ун-т, 1968. – 227 с.
26. Зульфигаров О.С., Юрченко В.В., Попович Г.М., Верповский Н.С., Пилипенко А.Т. // Укр. хим. журн. – 1992. – **58**, № 2. – С. 179 – 182.
27. Пат. 26215 Україна, МКІ G01N 31/00, C07 209/86, C07C 241/00 / І.М. Мага, О.С. Зульфигаров, В.М. Янкович. – Опубл. 10.09.1997, Бюл. №14.
28. Пат. 86102 Україна, МКІ G01N 21/75, G01N 21/59, G01N 21/25. G01N 31/00 / І.М. Мага, О.С. Зульфигаров, В.М. Янкович. – Опубл. 25.03.2009, Бюл. № 6.
29. Пат. 86563 Україна, МКІ G01N 30/00, G01N 21/75, G01N 21/69, G07C 241/00 / І.М. Мага, О.С. Зульфигаров, В.М. Янкович. – Опубл. 27.04.2009, Бюл. № 8.

Пограничная гос. контрол.-токсикол.  
лаборатория, г. Ужгород,  
Украина

Поступила 14.07.2009