



USING THE AZO COUPLING OF 3-CHLORO-2-ETHOXIETHILANILINE FOR ITS DETERMINATION IN FORM OF RELATED TRIAZENE DERIVATIVE BY METHOD OF THE HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Maga Ivan

Uzhgorod National University, Uzhgorod, Ukraine

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕАКЦИИ АЗОСОЧЕТАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ 3-ХЛОР-2-ЭТОКСИЭТИЛАНИЛИНА МЕТОДОМ ВЫСОКРОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ВИДЕ ТРИАЗЕНА

Мара Иван

Received 26. 6. 2017

Revised 28. 6. 2017

Published 29. 11. 2017

Triazene 3-chloro2-ethoxiethylaniline (CEA) from 4-nitrophenyldiazonium cations was synthesized. By elemental analysis method, its structure has been confirmed. The effect of hydrogen ions on the formation of CEA azoderivate was studied within the range of 2.8–12.6 pH, the optimum being pH 3.5–5.5. The decrease in the yield of triazene CEA at pH <3 is due to the dominance of the protonated forms of the output amine, while the decrease at pH >7 is due to a decrease in the diazonium-cation concentration. The yield of amine triazene also depends on the reaction time, as well as on the excess of the diazo reagent. The effect of the concentration of the reagent on the formation of azoderivate was studied, while the diazonium-cation concentration was varied from 1 to 30 times with respect to the amount of CEA. Azoderate is formed already at the ratio of components 1 : 1 in the amount of almost 50% of the theoretically calculated yield of the substance. With a further increase in the concentration of the diazo reagent by up to an order, the amount of formation of azoderivate sharply increases. At concentrations of more than 10 multiple amounts, almost complete formation of azo condensation is achieved. In further studies, its 20 times excess was used. To extract and recover the azoderivate, a number of organic solvents were examined: hexane, toluene, o-xylene, dichloromethane, chloroform, dichloroethane, ethyl acetate, butyl acetate, isoamyl acetate. The best were dichloromethane and chloroform. For practical purposes, chloroform was subsequently used. The kinetics of the formation of azoderivate was studied. Already in the first minutes of the solution exposure, almost half of the theoretically calculated yield of triazene is formed and increases significantly over a period of up to 40 minutes exposure of solutions. With an increase in the interaction time of the components to 40–100 min, the yield of azoderivate increases insignificantly. Optimum is 60 minutes exposure of solutions. A linear dependence of the area of chromatographic peaks on the concentration of CEA is observed in the range 22–4,300 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Based on the data obtained, a methodology for determining CEA in wastewater and soils has been developed.

Keywords: 3-chloro-2-ethoxianiline; azo coupling reaction; Hplc; triazene

*Corresponding author: Ivan Maga, Uzhgorod National University, Uzhgorod, Ukraine,
✉ ivan_maga@outlook.com

Введение

3-хлор-2-этоксанилин (СЕА) является продуктом биodeградации действующих веществ многих пестицидов флампроп-изопропанол (Matolcsy et al., 1988), флампропметил (Мельников и др., 1995) и т.д., которые имеют или имели широкое применение в сельском хозяйстве при выращивании различных культур (Cuypers et al., 2017).

СЕА – белый с желтым оттенком кристаллический порошок или пластинки. Растворимость в воде: 8,5 г/л (20 °С), температура плавления 42 – 44 °С, (горит.), температура кипения 139 °С (5.85078 mm Hg) °С, плотность: 1,311 г/см³ (Химическая энциклопедия, 1988). Кроме пестицидов является важным промежуточным продуктом, который широко используется в синтезе красителей, пигментов, фармацевтических препаратов и других важных продуктов. СЕА – токсичный при вдыхании, при контакте с кожей и при проглатывании. Опасность кумулятивных эффектов. Возможны серьезное раздражение глаз с последствиями для их здоровья. Может вызывать токсичность пораженных органов, раздражение дыхательных путей (Fratrici et al., 2017).

Известны различные хроматографические методы определения СЕА с масс-спектрометрическим детектированием. Feng et al. (2015) определяют СЕА используя микроэкстракционное эмульгирование с улучшенным поверхностно-активным веществом, воздействию ультразвуком с последующей хроматографической масс-спектрометрией (LC-MS/MS). Получены оптимальные условия следующим образом: 150 мкл экстрактивного растворителя (дихлорэтана) 150 мкл, полимерное поверхностно-активное вещество (альгинат натрия) 0,20 г/л, pH 7,0, соль 3 % и воздействие ультразвука 1 мин. В оптимальных условиях линейный диапазон составлял 0,5 – 200 мкг/л. Коэффициенты корреляции (R^2) и пределы обнаружения составляли 0,9961 – 0,9997 и 0,08 – 0,3 мкг L-1 соответственно, RSD были в пределах 10,3 и 11,9 %.

В работе Montes et al. (2016), используется амперометрический датчик углеродной нанотрубки для определения СЕА, обнаружен на многопорной углеродной нанотрубке с пределом обнаружения 50 мкмоль/л; 3-кратное увеличение чувствительности с использованием обоих модифицированных электродов было получено по сравнению с оголенным электродом. Сочетание пакетного инъекционного анализа с амперометрическим детектированием обеспечивало точность 1,2 % и пропускную способность образца 130 ч⁻¹. Анализ образцов методом капиллярной электрофорез-тандемной масс-спектрометрии (CE-MS / MS) подтвердил точность предложенного метода. Определение концентрации СЕА проводили в диапазоне концентраций от 4 до 235 мкмоль/л.

СЕА также определяют электрохимическим методом (Raouf et al., 2015) и спектроскопическим (Hadjeb et al., 2017), а также другими методами. Однако, недостатками указанных методов является сложная пробоподготовка, дорогая аппаратура, многостадийность.

В данной статье приведен метод определения СЕА в виде триазена путем дериватизации его с 4-нитрофенилдиазоний, а также химико-аналитические характеристики триазена.

Материалы и методы

Раствор СЕА (“Aldrich”) готовили растворением 171,5 мг амина в 50 см³ 0,01 М соляной кислоты. Затем раствор переносили в мерную колбу вместимостью 100 см³ и 0,01 М соляной кислотой доводили до метки. Водный раствор 4-нитрофенилдиазония в виде тетрафторборатной соли, синтезированного по (Коренман, 1975), готовили растворением в бидистиллированной воде и получали концентрацию 2,5 мг/см³. Использовали фосфатный буферный раствор – 0,15 М с pH 5,0.

Препаративное выделение азосоединения

В стакане вместимостью 100 см³ растворяют в 60 мг в 50 см³ водно-этанольном растворе при рН 5 (фосфатный буферный раствор) и после растворения навески амина добавляют 20 см³ раствора 4-нитрофенилдиазония в воде (2,5 мг/см³). Выпадает бурый-оранжевый осадок. Осадок переносят в воронку с фильтром (белая лента) и промывают несколько раз водой. Затем осадок растворяют в 60 см³ дихлорметана и в делительной воронке дважды промывают бидистиллированной водой. Органическую фазу сливают и просушивают безводным сульфатом натрия. Раствор фильтруют и органический растворитель выпаривают в вакууме.

Концентрацию водородных ионов измеряли на рН-метре Mettler Toledo (Швейцария). Оптическую плотность растворов измеряли и спектры поглощения записывали на спектрофотометре "Perkin-Elmer UV/VIS Lambda 3B" (США). ИЧС записывали на приборе Abator, фирма Nicolatt (США).

Хроматографические исследования проводили на жидком хроматографе "Perkin-Elmer" (США) со спектрофотометрическим детектором. Хроматографирование проводили в изократическом режиме: колонка стальная (250 × 4,6 мм вн. д.) заполнена фазой „Силасорб С18“, подвижная фаза ацетонитрил: вода = 70 : 30 детектирование проводили при $\lambda = 394$ нм, объем пробы, вводится 20 мкл, скорость подачи подвижной фазы 1,2 см³/мин.

Результаты и их обсуждение

Влияние водород-ионов на образование азодеривата СЕА исследовали в пределах 2,8 – 12,6 рН, оптимальным является рН 3,5 – 5,5 (рис. 1). Уменьшение выхода триазена СЕА при рН <3 обусловлено доминированием протонированных форм выходного амина, а уменьшение при рН >7 – уменьшением концентрации диазоний-катиона. При этом выход триазена амина зависит также от времени проведения реакции, а также от избытка диазореагента.

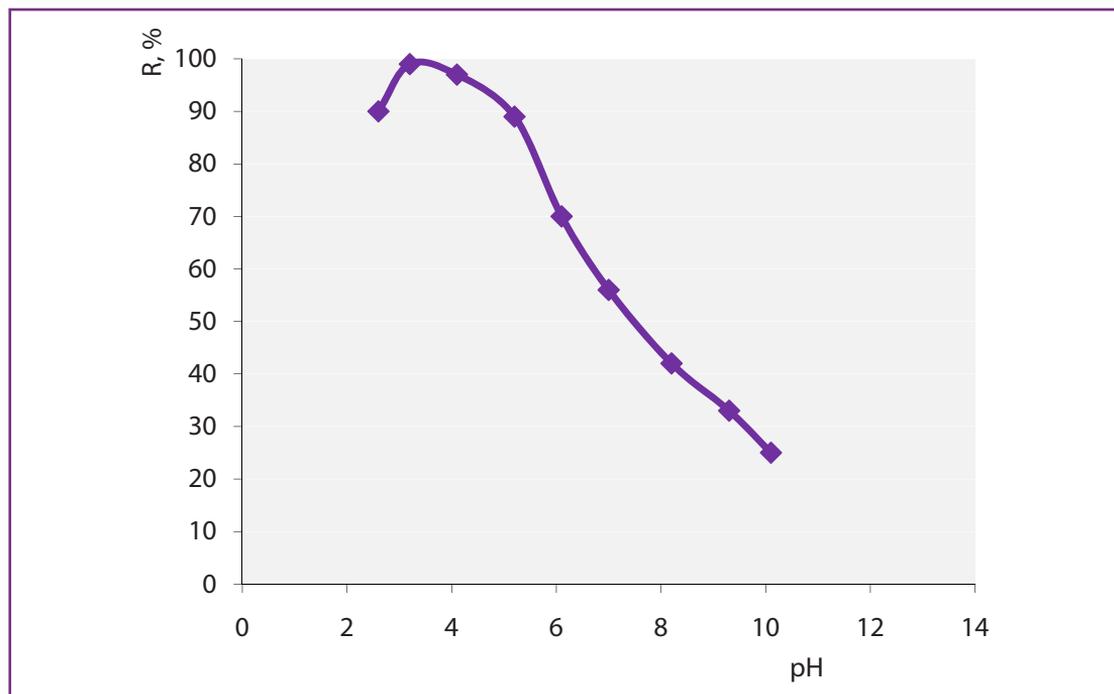


Рисунок 1 Зависимость выхода азодеривата СЕА от рН среды
Figure 1 Dependence of the yield of СЕА azoderivate on the рН value

Для изучения такого влияния концентрации реагента на образование азодеривата ставили ряд опытов, в которых концентрацию диазоний-катиона меняли в пределах от 1 до 30-кратного количества по отношению к количеству CEA (рис. 2).

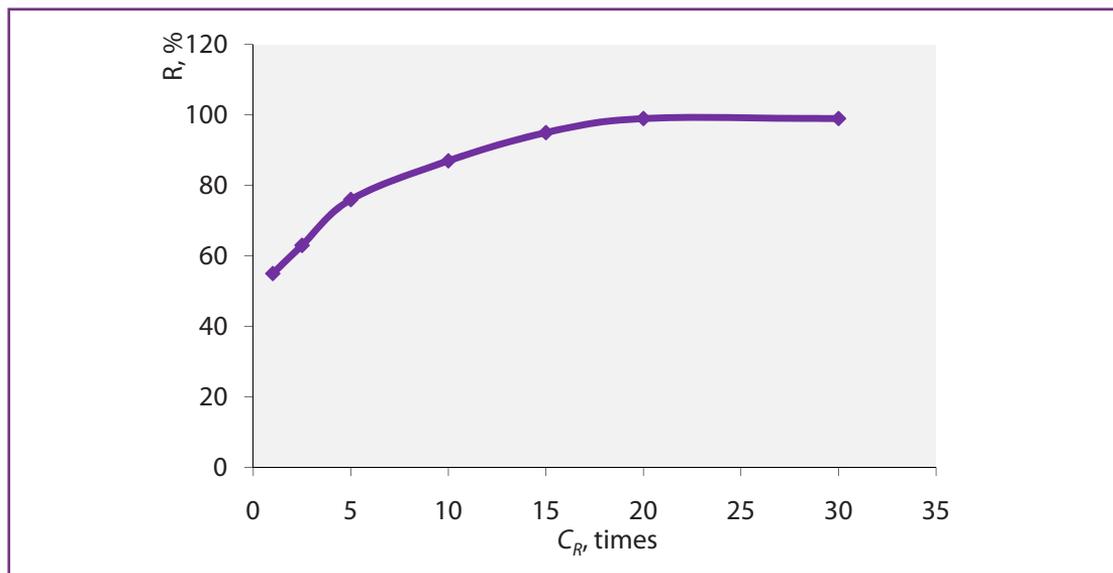


Рисунок 2 Влияние отношения концентраций 4-нитрофенилдиазоний катиона (кратность), C_R/C_{Am} на выход азодеривата CEA

Figure 2 Influence of the concentration ratio of 4-nitrophenyldiazony cation (multiplicity), C_R/C_{Am} output azoderivates CEA

Эксперименты показывают (рис. 3), что азодериват образуется уже при соотношениях компонентов 1 : 1 в количестве почти 50 % теоретически рассчитанного выхода вещества. При дальнейшем увеличении концентрации диазореагента до 10 кратной его количества резко возрастает количество образования азодеривата. При концентрациях более 10 кратных количеств достигается почти полное образование азосоединения. В дальнейших исследованиях использовали 20 кратный его избыток.

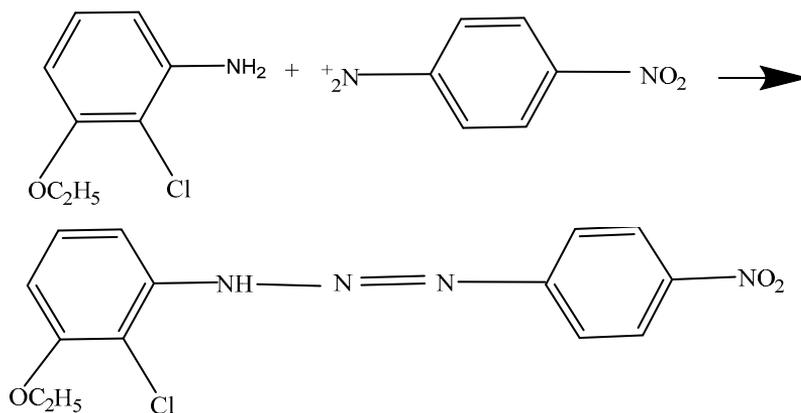


Рисунок 3 Схема реакции азодеривации CEA с 4-нитрофенилдиазоний катионом

Figure 3 The scheme of reaction of derivation CEA with 4-nitrophenyldiazonium cation

Сухой остаток – триазен СЕА анализируют на содержание углерода, хлора, водорода, и азота, результаты анализа приведены в таблице 1.

Таблица 1 Результаты элементного анализа триазена СЕА (%)

Table 1 The results of elemental analysis of СЕА triazene (%)

Углерод		Водород		Азот		Хлор	
вычислено	найдено	вычислено	найдено	вычислено	найдено	вычислено	найдено
52,42	5248	4,06	4,04	17,48	17,51	11,08	11,13

Для экстракции и извлечения азодеривата исследовали ряд органических растворителей: гексан, толуол, о-ксиллол, дихлорметан, хлороформ, дихлорэтан, этилацетат, бутилацетат, изоамилацетат. Лучшими оказались дихлорметан и хлороформ. Для практических целей в дальнейшем использовали хлороформ. Изучена кинетика образования азодеривата. Уже на первых минутах экспозиции растворов образуется почти половина теоретически рассчитанного выхода триазена и значительно возрастает в течение времени до 40 мин. экспозиции растворов. При увеличении времени взаимодействия компонентов до 40 – 100 мин., выход азодеривата растет в незначительной степени. Оптимальной является 60 мин. экспозиция растворов.

Линейная зависимость площади хроматографических пиков от концентрации СЕА наблюдается в пределах 22 – 4 300 мкг/дм³. На основе полученных данных разработана методика определения СЕА в сточных водах и почвах.

Методика определения СЕА методом ВЭЖХ в сточных водах

В мерную колбу вместимостью 10 см³ вносят 5,0 см³ раствора, содержащего 0,1 – 15 мкм (22 – 4 300 мкг/см³) СЕА добавляют 0,3 см³ формамида, перемешивают, добавляют 0,3 см³ фосфатного буферного раствора и 0,4 см³ водного раствора 4-нитрофенилдиазония, перемешивают. Через 6 мин доводят содержимое колбы этанолом до метки и перемешивают, охлаждают, снова доводят этанолом до метки и хроматографируют. Чувствительность определения 22 мкг/см³.

Методика определения СЕА в почвах

В плоскодонную колбу вместимостью 250 см³ помещают 25 г воздушно-сухой пробы почвы добавляют 50 см³ 0,5 М НСl и перемешивают на аппарате для встряхивания в течение 1 ч. Фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера с фильтром „синяя лента“ в колбу Бунзена. Остаток на фильтре промывают еще 25 см³ 0,5 М НСl. Фильтрат переносят в фарфоровую чашку вместимостью 50 см³ и выпаривают на песчаной бане досуха. Сухой остаток смывают 5 см³ фосфатного буфера, в мерную колбу вместимостью 10 см³ добавляют 0,3 см³ формамида, 0,4 см³ водного раствора 4-нитрофенилдиазония, перемешивают и дальше, как описано в методике для сточной воды. В таблице 2 приведены результаты определения СЕА в виде триазена в модельных растворах и в пробе сточной воды, отобранных на землях агропоромышленного торгового предприятия «Бобовище» село Бобовище, Мукачевский район, Закарпатской области, Украина.

Таблица 2 Результаты определения СЕА в виде триазена в модельных образцах почвы и растворах (1–3), в образце почвы и в сточной воде (4)

Table 2 Results of determination of СЕА as triazenes in modeling samples of soil and solutions (1–3) and soil sample and the wastewater (4)

№ п/п	Почва			Вода		
	введено, мкг/кг	найденно, мкг/кг	Sr	введено, мкг/дм ³	найденно, мкг/дм ³	Sr
1	24,0	23,9 ±0,3	0,04	24,0	24,1 ±0,3	0,04
2	115,0	115,2 ±0,7	0,03	125,0	124,8 ±0,6	0,03
3	320,0	320,4 ±1,5	0,02	160,0	159,7 ±1,4	0,02
4	–	33,2 ±0,3	0,03	–	27,9 ±0,3	0,03

Выводы

Синтезирован триазен с 4-нитрофенилдиазонием. Методами элементного анализа, подтверждена его структура. Установлены оптимальные условия образования триазена СЕА, рН 3 – 5, 20 кратный избыток 4-нитрофенилдиазоний катиона. Извлечение в органическую фазу максимально при использовании в качестве экстрагентов дихлорметана и хлороформа. Линейная зависимость площади хроматографических пиков от концентрации СЕА наблюдается в пределах 22 – 4300 мкг/дм³. Разработаны и апробированы методики определения СЕА в виде триазена методом ВЭЖХ в почвах и в сточных водах. Методики апробированы на модельных образцах и на реальных объектах. Приведена метрологическая обработка результатов.

Литература

- Cuypers, E., Vanhoveb, W., Gotinka, J., Bonneurea, A., Dammeb, P.V., Tytgata, J. 2017. The use of pesticides in Belgian illicit indoor cannabis plantations. *Forensic Science International*, vol. 277, no. 8, p. 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.05.016>
- Feng, W., Zhu, Y., Ouyang, G.F. 2015. Application of an Ultrasound-assisted Polymer Surfactant-enhanced Emulsification Microextraction for Determination of Aromatic Amines in Water Sample. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, vol. 43, no. 7. p. 957–963. [https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(15\)60834-9](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(15)60834-9)
- Fratric, V., Varga, J., Vukmirović, S., Sudji, J., Živković, D. 2017. Cryptorchidism and pesticides: Is there a connection? *Journal of Pediatric Surgery*, vol. 52, no. 7 p. 1166–1168. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2016.11.048>
- Matolcsy, G., Nadasy, N., Andriska, V. 1988. *Pesticide Chemistry Amsterdam*. Elsevier. 808 p.
- Montes, R.H.O., Lima, A.P., Santos, V.B., Vidal, D.T.R., Lago, C.L., Richtey E.M., Rodrigo, A.A., Munoz, R.A.A. 2016. Carbon-nanotube amperometric sensor for selective determination of 3-chloro2-ethoxiethylaniline in commercial chlorhexidine solutions. *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 231, no. 8. 2016, p. 38–44. DOI: 10.1016/j.snb.2016.02.139
- Raoof, J.B., Teymoore, N., Khalilzadeh, M.A., Ojani, R. 2015. A high sensitive electrochemical nanosensor for simultaneous determination of glutathione, NADH and folic acid. *Materials Science and Engineering: C*, vol. 47, no.2, p. 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2014.11.012>
- Коренман, И.М. 1975. Фотометрический анализ. *Методы определения органических соединений*. М.: Химия, 390 с.
- Мельников, Н.Н., Новожилов, К.В., Белан, С.Р. 1995. Пестициды и регуляторы роста растений. *Справочник*. М.: Химия. 576 с.
- Химическая энциклопедия*. 1988. Главный редактор И.Л. Кнунянц. В 5 томах, т. 1. М.: Советская энциклопедия, сс. 165.