

---

# DETERMINACION DE AMINAS AROMATICAS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION.

(Δ)

M.C. Gutiérrez(\*), M. Crespi(\*\*)

## 0.1 Resumen

Este trabajo consiste en la puesta a punto del método analítico para la determinación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de las aminas aromáticas empleadas más frecuentemente en la fabricación de colorantes sulfurosos: m-tolilendiamina, p-fenilendiamina, o-toluidina, p-toluidina, anilina, p-aminofenol, difenilamina, y p-hidroxidifenilamina. La longitud de onda de detección es de 260 nm.

El principal objetivo del presente estudio es la consecución de un método de análisis por H.P.L.C. rápido y sensible, capaz de sustituir al presentado en nuestra publicación anterior en el que se empleó la técnica de cromatografía de gases.

## 0.2 Summary

This paper describes an original analytical method for the determination by high resolution liquid chromatography (H.P.L.C.) of these aromatic amines: m-tolylendiamine, p-phenylenediamine, o-toluidine, p-toluidine, aniline, p-aminophenol, diphenylamine and p-hydroxydiphenylamine.

The detection wavelength is 260 nm.

The main objectif of this paper is the achievement of a fast and sensivite H.P.L.C. analytical method, capable to substitute the one described in our previous paper in which the gas chromatography technique was used.

## 0.3 Résumé

Ce travail consiste à la mise au point d'une méthode analytique pour le dosage par H.P.L.C. des amines aromatiques utilisées le plus frequemment à la fabrication des colorants au soufre: m-tolylènediamine, p-phenylènediamide, o-toluidine, aniline, p-aminophénol, diphénylamine et p-hydroxydiphénylamine.

La longueur d'onde de détection est de 260 nm.

Le principal objectif de cette étude est la présentation d'une méthode d'analyse par H.P.L.C. rapide et sensible, capable de substituir celle indiquée dans notre publication antérieure, dans laquelle la technique de chromatographie en phase gaseuse a été employée.

(Δ) Trabajo previamente publicado en "Textilia", (1988) n° 4, 36-39

(\*) Licda. en C. Químicas M<sup>a</sup> del Carmen Gutiérrez Bouzan. Laboratorio de "Control de la Contaminación Ambiental" de este instituto.

(\*\*) Dr. Ing. Martín Crespi Rossell. Catedrático de "Química Textil" en la Esc. Universitaria de Ingeniería Técnica Industrial de Terrassa, Sub-Director de este Instituto y Jefe de sus Laboratorios de "Control de la Contaminación Ambiental".

## 1. INTRODUCCION

La industria de los colorantes utiliza las aminas aromáticas, ya sea como intermedio para la preparación de los colorantes, ya sea como materia colorante en sí, adaptada para la tintura de los tejidos o de otros sustratos.

La importancia de las aminas aromáticas como intermedio de síntesis reside en su reactividad, que permite la introducción de otros sustituyentes en el anillo bencénico; el grupo amino se comporta como activante en muchas sustituciones como la halogenación, la sulfonación y la nitración.

Algunas aminas aromáticas usadas como producto intermedio en la fabricación de colorantes han dado evidencia concreta de posibles complicaciones neoplásmicas y se han esperado factores de riesgo neoplásmico para otros colorantes conteniendo el grupo funcional amino sobre núcleo aromático. En consecuencia de ello, varios países han dictado normas para regular la producción, el empleo y el comercio de tales aminas aromáticas.

Casi todas las clases químicas de colorantes tienen productos definibles como aminas aromáticas. Pero, la peligrosidad no es extensible a todas ellas, sino solo a ciertas sustancias de estructura particular. Sin embargo, el conocimiento actual sobre la toxicidad a largo plazo de las aminas aromáticas es todavía muy incompleto<sup>1)</sup>.

En este trabajo se estudia un método de identificación y determinación cuantitativa por cromatografía líquida de alta resolución de los residuos de aminas aromáticas presentes en los colorantes sulfurosos.

Dichos colorantes se preparan industrialmente por fusión con azufre o polisulfuro sódico de aminas, fenoles, nitrocompuestos, etc; o bien por calentamiento de estos compuestos en una disolución acuosa o acuoso-alcohólica de sulfuro o polisulfuro sódico. Este trabajo se basa en los colorantes Diresul de Cardoner S.A., que se comercializan ya reducidos en forma líquida y contienen xilensulfonato y carbitol como disolventes.

Las aminas seleccionadas para el estudio son las siguientes: m-tolilendi-amina, p-fenilendiamina, o-toluidina, p-toluidina, anilina, p-aminofenol, difenilamina y p-hidroxidifenilamina. Estos compuestos tienen carácter tóxico<sup>2)</sup> y son de uso frecuente en la fabricación de colorantes sulfurosos. Algunos de ellos pueden generarse, además, por reacciones de compuestos residuales presentes en los colorantes.

En nuestro anterior trabajo<sup>3)</sup>, se emplearon dos técnicas para la determinación de los residuos de aminas aromáticas: cromatografía de gases y

cromatografía líquida de alta resolución.

Por cromatografía de gases, no fue posible la determinación de p-aminofenol, ni de anilina. El primero se descompone al alcanzar la temperatura de ebullición y la segunda da un pico solapado con el correspondiente al carbitol. Además, son necesarios tres cromatogramas para la determinación de las restantes aminas, siendo el tiempo de análisis relativamente largo (45-50 minutos por muestra).

El método puesto a punto en dicho trabajo por HPLC, no dio resultados satisfactorios ya que se eluyen al mismo tiempo anilina, m-tolilendiamina y difenilamina.

El objetivo del presente trabajo es optimizar este método, ya que la cromatografía líquida parece más adecuada para la determinación de aminas aromáticas que la cromatografía de gases, por ser compuestos con cierto carácter polar y de punto de ebullición elevado.

## **2. MATERIAL Y EQUIPO INSTRUMENTAL**

El aparato empleado es un sistema modular "Waters" equipado con un módulo de compresión radial que contiene una columna de paredes flexibles. Se utiliza la columna Radial-Pak CN rellena con partículas esféricas de 10  $\mu\text{m}$  de diámetro.

Como eluyentes, se emplearon mezclas de metanol o acetonitrilo Fluka de calidad para HPLC con agua, tratada por el sistema Milli-Q de Millipore para la obtención de agua de calidad apropiada para HPLC, siendo su resistividad mayor de 10 Megaohms.cm.

Se añade al eluyente fosfato de dibutilamina a concentración 0'01M, que actúa como modificador de la fase móvil y establece un mecanismo de competencia entre la amina del eluyente y las de la muestra. De esta forma, los compuestos a analizar se eluyen más rápidamente y se obtienen picos más simétricos<sup>4</sup>.

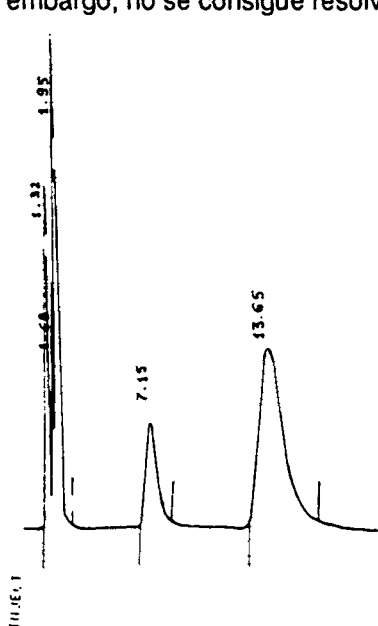
Se selecciona la longitud de onda de máxima absorbancia ( $\lambda = 260 \text{ nm}$ ) para la detección de todas las aminas.

Los patrones de las aminas se preparan en metanol-agua 50:50.

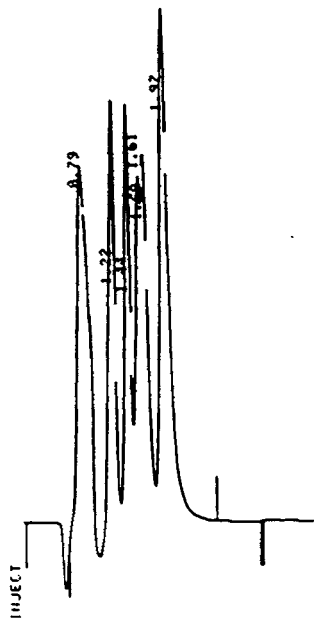
## **3. RESULTADOS EXPERIMENTALES**

### **3.1 Método analítico**

Como eluyentes, se probaron diversas mezclas isocráticas de metanol-agua conteniendo fosfato de dibutilamina 0'01 M a pH 3 y a flujos comprendidos entre 2 y 5 ml/min.; se obtiene mejor resolución con una proporción elevada de agua (90% Agua - 10% Metanol) a un flujo de 2'5 ml/min. Los resultados se muestran en la Figura 1. No se aprecian interferencias de los disolventes xilensulfonato y carbitol, presentes en grandes cantidades en los colorantes sulfurosos; sin embargo, no se consigue resolver todas las aminas.



**Figura 1 :**  $t_R = 1.32$  p-aminofenol  
 p-fenilendiamina  
 $t_R = 1.68$  anilina  
 m-tolilendiamina  
 $t_R = 1.95$  o-toluidina  
 p-toluidina  
 $t_R = 7.15$  p-hidroxidifenilamina  
 $t_R = 13.65$  difenilamina



**Figura 2 :**  $t_R = 0.79$  difenilamina  
 p-hidroxidifenilamina  
 $t_R = 1.22$  o- toluidina  
 anilina  
 $t_R = 1.44$  p-toluidina  
 $t_R = 1.61$  p-aminofenol  
 $t_R = 1.68$  m-tolilendiamina  
 $t_R = 1.97$  p-fenilendiamina

Se obtienen resultados más satisfactorios con mezclas de acetonitrilo-agua, conteniendo igualmente fosfato de dibutilamina 0'01 M a pH 3. La mejor resolución se consigue con la proporción de acetonitrilo-agua 90:10, a un flujo de 4 ml/min. En estas condiciones, el cromatograma resultante es el de la figura 2. Se consigue una buena resolución de la p-toluidina, p-aminofenol, m-tolilendiamina y p-fenilendiamina. El primer pico del cromatograma corresponde al carbitol, la difenitamina y la p-hidroxidifenilamina. El xilensulfonato da un tiempo de retención

más bajo. Debido a las interferencias de los disolventes xilensulfonato y carbitol, no es posible determinar por este método la difenilamina y la p-hidroxidifenilamina. Se observa que la anilina y la o-toluidina también se eluyen juntas. En cambio, cuando se inyectan únicamente estos dos compuestos, dan dos picos bien separados (figura 3). Se comprobó que la presencia en el eluyente de THF en cantidades del orden del 1 ó 2% no mejora la resolución.

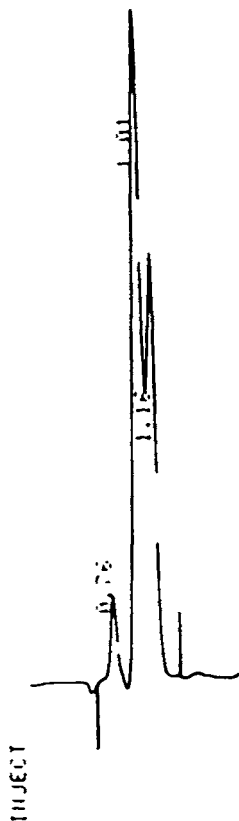


Figura 3 :  $t_R = 1.01$  o- toluidina  
 $t_R = 1.16$  anilina

Tampoco el reciclado de las muestras, que consiste en hacer pasar la muestra dos o más veces sucesivas a través de la columna cromatográfica, da

resultados satisfactorios, ya que se obtienen picos excesivamente anchos.

La difenilamina y la p-hidroxidifenilamina se pueden determinar con una disolución de fosfato de dibutilamina 0'01 M a pH 3 en acetonitrilo - agua 30:70 y a un flujo de 6 ml/min. Con este eluyente se obtiene el cromatograma de la Figura 4. En esta separación no interfieren las restantes aminas, ni los disolventes xilensulfonato y carbitol, ya que su tiempo de retención es inferior.

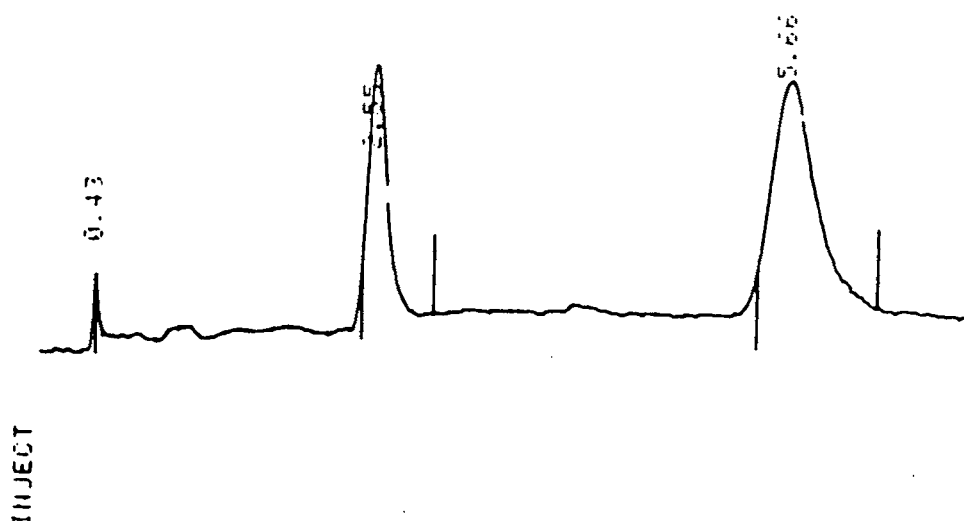


Figura. 4 :  $t_R = 2.55$  p-hidroxidifenilamina  
 $t_R = 5.66$  difenilamina

### 3.2 Sensibilidad

La sensibilidad es la más pequeña cantidad de una sustancia determinable

con cierta precisión y se expresa como la cantidad de ésta cuyo pico tiene un área doble de la desviación estándar (para un nivel de confianza del 90%)<sup>4)</sup>.

La desviación estándar empleada para determinar la sensibilidad en este trabajo se calcula a partir de las áreas correspondientes a 4 inyecciones extremadamente diluidas de cada amina, de forma que su absorbancia al pasar por el detector sea menor de 0'002.

En la Tabla 1 se indican los valores de sensibilidad obtenidos según este método.

<u>Amina</u>	<u>Sensibilidad (ng)</u>
anilina	20
o-toluidina	26
p-toluidina	12
m-toluendiamina	3
p-fenilendiamina	6
p-aminofenol	44
difenilamina	29
p-hidroxidifenilamina	8

Puesto que en este ensayo se inyectan 20µl de disolución, se pueden determinar concentraciones que oscilan entre 0'2 ppm (m-tolilendiamina) y 2 ppm (p-aminofenol).

#### 4. CONCLUSIONES

El método puesto a punto por HPLC en este trabajo presenta las siguientes ventajas respecto al de la cromatografía de gases propuesto en nuestra anterior publicación<sup>3)</sup>:

**4.1** Por HPLC la sensibilidad es más elevada que por CG: 0'2 - 2 ppm con la primera técnica y 5 - 50 ppm con la segunda.

**4.2** El tiempo de análisis es más corto. Por HPLC, se determinan todas las

aminas estudiadas en dos cromatogramas de 2 y 6 minutos respectivamente, mientras que por cromatografía de gases se requieren 3 cromatogramas de duración comprendida entre 7 y 15 minutos.

**4.3** El método puesto a punto por CG no permite la determinación de p-aminofenol, ni de anilina; el primer compuesto se descompone al alcanzar su punto de ebullición y el segundo no se separa de los disolventes. Por HPLC se pueden determinar simultáneamente todas las aminas. Únicamente la anilina y la o-toluidina se eluyen juntas en caso de que la muestra contenga un número elevado de aminas residuales.

Sin embargo, a la hora de seleccionar una de estas dos técnicas, hay otro factor importante a tener en cuenta: por CG, la muestra no requiere tratamiento previo a la inyección, mientras que por HPLC es necesario eliminar el azufre contenido en los colorantes, ya que deterioran la columna cromatográfica. El tratamiento puede consistir simplemente en una reacción con bisulfito o bien en la adición de ácido clorhídrico, con lo cual precipitan el colorante y el azufre, determinándose las aminas en el líquido sobrenadante.

Además, es recomendable, como protección de la columna, el empleo de una precolumna rellena con la misma fase estacionaria que la columna.

## **5. BIBLIOGRAFIA**

1. Conoscenze sulla tossità dei coloranti organici e normativa ministeriale riguardante le ammine aromatiche. Frangi, C. - *Tintoria*, 11 (1982), 361-369.
2. The Merck Index. Windholz, M. Merck and Co. 1983.
3. Determinazione di ammine aromatiche libere nei coloranti allo zolfo. Gutiérrez, M.C.; Crespo, R.; Crespi, R. - *Tintoria*, 6 (1985), 161 - 165.
4. Separación de aminas mediante el sistema de compresión radial.- Waters Española, S.A. (1981).

Recibido:89.01.10 - Aceptado:89.03.01