

POUŽITIE POLAROGRAFICKEJ METÓDY PRI KVANTITATÍVOM VYHODNOTENÍ IZOMÉROV A DERIVÁTOV O,O-DIETYL-O-*p*-NITROFENYL-TIOFOSFÁTU (PARATIÓNU) PO ICH ROZDELENÍ CHROMATOGRAFIOU NA PAPIERI

JOZEF KOVÁČ

Výskumný ústav agrochemickej technológie v Bratislave-Predmestí

Doteraz pužívané analytické metódy titračné [1, 2], kolorimetrické [3, 4], spektrofotometrické v UV oblasti [5, 6], polarografické [7, 8, 9] nemožno priamo použiť pri analýze zložitých zmesí derivátov a izomérov O,O-dietyl-O-*p*-nitrofenyltiofosfátu. Pri štúdiu izomerizácie paratiónu R. L. Metcalf a R. B. March [10] použili ako vhodnú metódu reverznú chromatografiu na papieri v systéme: silikón (stacionárna fáza), etylalkohol + chloroform + voda (mobilná fáza). Kvantitatívne vyhodnotenie chromatogramov robili 24 hodinovou elúciou alkoholickým lúhom draselným detegovaných škvrn a fotometrickým meraním intenzity zafarbenia eluátu *p*-nitrofenolátu draselného. Pretože sa kvantitatívne stanovenie zakladá na vzniku *p*-nitrofenolátu draselného, predpokladá sa úplná hydrolýza. Tým sa doba kvantitatívneho vyhodnotenia predlžuje na 24 hodín. Začiatok hydrolýzy paratiónu, ktorý veľmi ťažko hydrolyzuje, uskutočňuje sa v sušiarňi pri 105 °C, čím môžu nastať straty odparením, prv než prebehne hydrolýza. Pri ostatných derivátoch a izoméroch, pri ktorých hydrolýza prebieha rýchle, možno tieto straty zanedbať. Zistili sme, že pre kvantitatívne vyhodnotenie derivátov a izomérov paratiónu oddelených papierovou chromatografiou veľmi dobre vyhovuje polarografická metóda, ktorá odstraňuje nedostatky metódy [10].

Pri chromatografickom oddelovaní organofosforečných a tiofosforečných esterov na papieri podľa metódy V. Bátoru [11] pracuje sa v sústave: formamid (stacionárna fáza) a rafinovaný petroléter; b. v. 70—110 °C (mobilná fáza). Vyvíjanie chromatogramov sa robí descendenčne za použitia pásov papiera Whatman 1. Pokiaľ sú uvedené estery polarograficky aktívne, je táto sústava veľmi výhodná pre polarografické kvantitatívne vyhodnotenie. Tento spôsob kombinovanej analýzy spojuje všetky výhody rozdeľovacej chromatografie na papieri a rýchlej polarografickej mikroanalýzy. Metóda umožňuje pomerne rýchle kvantitatívne vyhodnotenie všetkých polarograficky aktívnych zložiek v technickom produkte paratiónu. Sústava [11] vyhovuje aj pri analýze komerčných produktov paratiónu, lebo odstraňuje škodlivý vplyv emulgátora pri polarografickom stanovení a súčasne umožňuje etylanalógu a metylanalógu vedľa seba.

Experimentálna časť

Pracovalo sa na Heyrovského polarografe typu V 301. Pre malé objemy (1—2 ml) základného elektrolytu sa použila Nováková nádobka. Na zviditeľnenie škvŕn v ultrafialovom svetle sa použila ortuťová výbojka Philips Philora 125 W. Pri kvantitatívnom vyhodnotení sa volili dva spôsoby: Chromatogram sa po skončení vyvíjania nevyvoláva, takže sa zloženie oddelených individuí nemení; jednotlivé škvŕny sa po predchádzajúcom vylúhovaní vyhodnocujú priamo polarograficky. Z týchto dôvodov sa polohy škvŕn zisťujú v ultrafialovom svetle, vystrihnú sa, extrahujú základným elektrolytom a polarografujú sa. Táto metóda vyžaduje rad štandardných látok, pomocou ktorých sa jednotlivé škvŕny vyhodnocujú. Z dôvodov skrátenia extrakčnej doby obsahuje základný elektrolyt až 85 % alkoholu, čo značne znižuje citlivosť metódy. Pri vyhodnocovaní hlavnej účinnej látky prítomnej v technickom produkte citlivosť úplne vyhovuje, lebo výsledná koncentrácia, ktorá vznikne extrakciou škvŕny 1,5 ml základného elektrolytu, je v oblasti bežných koncentrácií používaných v polarografickej analýze. Pri súčasnom kvantitatívnom stanovení ostatných zložiek treba vhodne zväčšiť nanášané množstvo analyzovanej vzorky, aby sa dosiahla potrebná koncentrácia. Pri analýze zmesi, ktoré obsahujú najrozmanitejšie izoméry a deriváty paratiónu vo veľmi malých množstvách v pomere k hlavnej zložke, ukázal sa výhodnejší tento spôsob: Hlavná zložka produktu sa stanovuje priamo po predchádzajúcom zviditeľnení v ultrafialovom svetle a po extrakcii polarograficky, zvyšok chromatogramu sa deteguje a produkt alkalickej hydrolyzy *p*-nitrofenolát draselný sa stanoví polarograficky vo vodnom prostredí, čím sa dosiahne väčšia citlivosť. Pri vyhodnocovaní paratiónu ako hlavnej zložky technického produktu nemožno použiť tento spôsob preto, lebo paratión v pomere k ostatným izomérom veľmi ťažko hydrolyzuje.

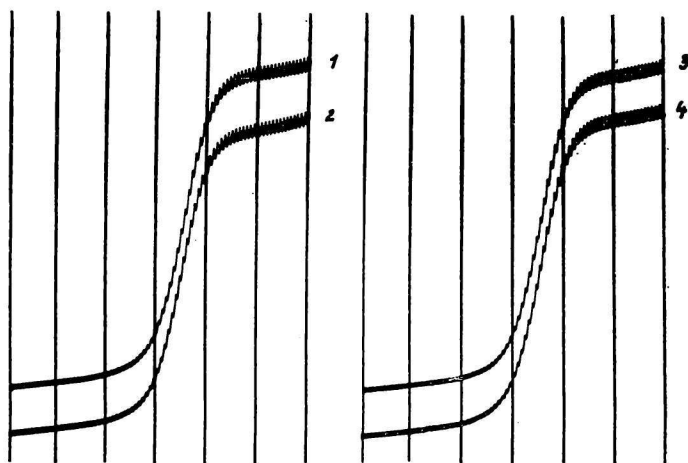
Voľba základného elektrolytu a podmienok extrakcie

Pri kvantitatívnom vyhodnotení paratiónu, prípadne jeho metylanalógu sa volí vysoký obsah alkoholu, aby sa škvŕna mohla rýchle vylúhovať a priamo polarografovať. Veľmi dobre sa osvedčil základný elektrolyt o zložení: 10 % acetátového tlmivého roztoku ($0,1 \text{ N-CH}_3\text{COOH} + 0,1 \text{ N-CH}_3\text{COONa}$) a 90 % etylalkoholu (96 %).

Najvýhodnejšia reakčná doba sa zistila experimentálne. Na pripravený chromatografický papier sa mikropipetkou o obsahu 3,625 μl nanieslo 50 μg paratiónu v acetónovom roztoku. Škvŕny sa vystrihli v UV svetle a rozstrihali na štvorčeky o strane približne 2 mm. Pomocou lešteného fotografického papiera sa vsypali do suchých skúmaviek a zaliali 1,5 ml základného elektrolytu. Skúmavkami sa mierne zatrepalo, pričom sa dbalo na to, aby rozstrihané škvŕny boli pod hladinou elektrolytu. Vylúhované škvŕny sa polarografovali v časových intervaloch 15, 30, 60 minút až 24 hodín. Z obr. 1 vyplýva, že extrakčná doba 20 minút úplne postačuje, lebo vo výškach vln jednotlivých extrakčných dôb nie sú podstatné rozdiely. Tým sa súčasne dokázala reprodukovateľnosť nanášania roztoku paratiónu na chromatografický papier.

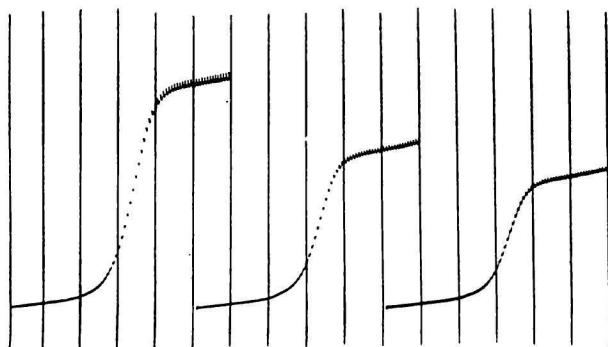
Na obr. 2 je závislosť limitného prúdu paratiónu od koncentrácie po vyvíjaní chromatogramu a vylúhovaní jednotlivých váhových množstiev. Pri tom sa dosiahla lineárna závislosť medzi koncentráciou a výškou limitného prúdu. Lineárna závislosť sa dosiahla aj pri ostatných organofosforečných zlúčeninách typu paratiónu.

Súčasne sa registrovala kalibračná krivka paratiónu priamym nanosením váhových množstiev paratiónu a jeho metylanalógu na chromatografický papier bez vyvíjania



Obr. 1. Závislost vyextrahovaného množstva paratiónu od času.

Škvrny s obsahom $50 \mu\text{g}$ paratiónu extrahované v $1,5 \text{ ml}$ základného elektrolytu (zloženie v texte). Krivka (1) doba extrakcie 15 min. , (2) 30 min. , (3) 60 min. , (4) 24 hod. Začiatok kriviek druhý závit, $E = 3 \text{ V}$, Novákova nádobka, citlivosť $1/10$.



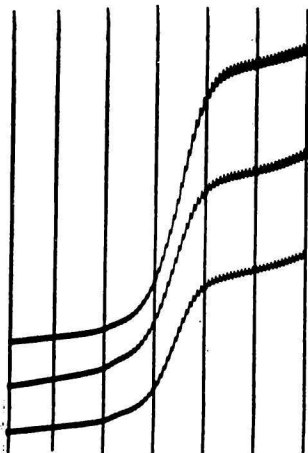
Obr. 2. Závislost limitného prúdu paratiónu od koncentrácie.

Váhové množstvá $50,0 \mu\text{g}$, $33,4 \mu\text{g}$, $25,0 \mu\text{g}$ nanosené na chromatografický papier, vylúhované v $1,5 \text{ ml}$ základného elektrolytu (zloženie v texte). Výšky vln 59 mm , 40 mm , 31 mm . Začiatok kriviek druhý závit, $E = 3 \text{ V}$, Novákova nádobka, citlivosť $1/10$.

chromatogramu. Zistilo sa, že straty na papieri počas vyvíjania chromatogramu nie sú reprodukovateľné, a preto ich nemôžeme vyjadriť korekčným faktorom pri vyhodnocovaní analýzy. Z týchto dôvodov je nevyhnutné nanášať na štart chromatogramu súčasne aj štandard, aby sa straty eliminovali.

Pracovný postup pri analýze technického produktu paratiónu

Zásobné roztoky štandardu a technického produktu paratiónu v acetóne sa pripravujú o takej koncentrácii, aby pri použití mikropipety o obsahu $3\text{--}5 \mu\text{l}$ sa na štart chromatogramu nanieslo približne $50 \mu\text{g}$ účinnej látky. Vykoná sa chromatografické oddelovanie podľa metódy [11]. Škvrny pri čele chromatogramu patriace paratiónu zo vzorky a štan-



Obr. 3. Závislosť limitného prúdu paratiónu od koncentrácie.

Váhové množstvá paratiónu 50,0 μg , 33,4 μg , 25,0 μg po chromatografickom oddelení vylúhované v 1,5 ml základného elektrolytu (zloženie v texte). Výšky vln 53 mm, 36 mm, 27 mm. Začiatok kriviek druhý závit, $E = 3 \text{ V}$, Novákova nádobka, citlivosť 1/10.

dardu sa v ultrafialovom svetle vystrihnú a rozstrihajú na malé štvorce o strane ca 2–3 mm. Rozstrihané škvrnky sa pomocou lesklého papiera vnesú na dno suchých skúmaviek, zalejú a mierne zatrepú 1,5 ml základného elektrolytu o zložení: 90 % etylalkoholu (96 %) a 10 % acetátového tlmivého roztoku (0,1 N- $\text{CH}_3\text{COOH} + 0,1 \text{ N-CH}_3\text{COONa}$ 1 : 1). Po 20 minútach sa registrujú krivky pri napätí 3 V, začiatok kriviek je pri druhom závite, citlivosť je približne 1/10. Pri analýze ostatných polarograficky aktívnych súčastí v technickom produkte sa postupuje takto: Zvyšok chromatogramu sa po vystrihnutí škvŕn paratiónu postrieka 1,5 N alkoholickým lúhom draselným a 30 minút zahrieva v sušiarňi pri 100 °C, čím sa detegujú ostatné škvrnky vo forme *p*-nitrofenolátu draselného. Škvrnky sa vystrihnú, rozstrihajú a zalejú v skúmavkách 1 ml 0,1 N-NaOH. Krivky sa registrujú na druhý deň. Pred registrovaním kriviek sa do každej skúmavky pridá mikropipetou 0,05 ml ľadovej kyseliny octovej, čím sa dosiahne vhodne ustálené prostredie pre polarografické stanovenie *p*-nitrofenolu. Krivky sa registrujú pri citlivosti 1/5 a vyhodnocujú pomocou štandardu *p*-nitrofenolu. Hodnoty *p*-nitrofenolu získané analýzou sa prepočítajú na patričné zložky. Táto zdĺhavejšia metóda sa použije vtedy, keď ostatné zložky sú prítomné vo veľmi malých množstvách. V prípade, že sú prítomné vo väčších množstvách než 1 %, možno použiť priamu metódu ako pri samotnom paratióne, ale sa musí vhodne zväčšiť množstvo analyzovanej vzorky nanášané na štart chromatogramu. Výsledky analýzy finálneho komerčného produktu *Bayer E 605* sú v tab. 1.

Tabuľka 1

Výsledky analýzy komerčného produktu *Bayer E 605 forte*

Analyzovaná zložka	%
O,O-dietyl-O- <i>p</i> -nitrofenyltiofosfát	48,0
O-etyl-O,O-bis- <i>p</i> -nitrofenyltiofosfát	0,2
O,S-dietyl-O- <i>p</i> -nitrofenyltiofosfát	0,3
O,O-dietyl-O- <i>p</i> -nitrofenylfosfát	v stopách
<i>p</i> -nitrofenol	v stopách
emulgátor	zvyšok do 100 %

Ďakujem inž. V. Bátorovi za ochotné vykonanie chromatografického oddelenia organofosfátov a za cenné rady týkajúce sa vlastností jednotlivých izomérov.

Súhrn

Pri kvantitatívnom vyhodnocovaní izomérov a derivátov O,O-dietyl-O-*p*-nitrofenyltiofosfátu (paratiónu) po ich rozdelení chromatografiou na papieri sa výhodne použila polarografická metóda.

Škvrnny sa vystrihnú pri ultrafialovom svetle, rozstrihajú sa a priebehom 15 minút sa vylúhujú v 1,5 ml základného elektrolytu, ktorý obsahuje 90 % (96 %) etylalkoholu a 10 % acetátového tlmivého roztoku (0,1 N-CH₃COOH + 0,1 N-CH₃COONa). Polarografuje sa v Novákovej nádobke pre malé objemy 1—2 ml.

ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ПРИ КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОБСУЖДЕНИИ ИЗОМЕРОВ И ПРОИЗВОДНЫХ О,О-ДИЭТИЛ-О-*p*-НИТРОФЕНИЛТИОФOSФАТА (ПАРАТИОНА) ПОСЛЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ИХ НА БУМАГЕ

ИОСИФ КОВАЧ

Исследовательский институт агрохимической технологии в Братиславе-Предместье

Выводы

Успешно был применен полярографический метод при количественном обсуждении изомеров и производных О,О-диэтил-О-*p*-нитрофенилтиофосфата (паратиона) после хроматографического разделения их на бумаге.

Пятна выстригиваются в ультрафиолетовом свете, расстригиваются и выщелачиваются в 1,5 мл основного электролита, содержащего 90 % (96 %) этилового спирта и 10 % ацетатного буферного раствора (0,1 N-CH₃COOH + 0,1 N-CH₃COONa) в течении 15 минут.

Полярографические измерения производятся в сосуде Новака для малых объемов а то 1—2 мл.

Поступило в редакцию 27. 9. 1956 г.

ANWENDUNG DER POLAROGRAPHISCHEN METHODE FÜR DIE QUANTITATIVE AUSWERTUNG DER ISOMERE UND DERIVATE DES O,О-DIÄTHYL-O-*p*-NITROPHENYLTHIOPHOSPHATS (PARATHIONS) NACH IHRER TRENNUNG MITTELS PAPIERCHROMATOGRAPHIE

JOZEF KOVÁČ

Forschungsinstitut für agrochemische Technologie in Bratislava-Predmestie

Zusammenfassung

Für die quantitative Auswertung der Isomere und Derivate des O,О-Diäthyl-O-*p*-nitrophenylthiophosphats (Parathions) nach ihrer Trennung mittels Papierchromatographie wurde vorteilhaft die polarographische Methode angewendet.

Die Flecke werden im UV-Licht ausgeschnitten, dann zerschnitten und in 1,5 ml des Grundelektrolyten, enthaltend 90 % Äthylalkohol (96 %ig) und 10 % Azetatpufferlösung

(0,1 N-CH₃COOH + 0,1 N-CH₃COONa), während der Dauer von 15 min ausgelaugt. In einem Gefäss nach Novák für kleine Volumen von 1—2 ml wird sodann polarographiert.

In die Redaktion eingelangt den 27. 9. 1956

LITERATÚRA

1. Keefe K. O', Averell P. R., Anal. Chem. 23, 1167 (1951). — 2. Schönamsgruber M., Z. anal. Chem. 135, 23 (1952). — 3. Averell P. R., Norris M. V., Anal. Chem. 20, 753 (1948). — 4. Gage J. C., Analyst 75, 189 (1950). — 5. Hirt R. C., Giselard J. B., Anal. Chem. 23, 185 (1951). — 6. Ketelaar J. A., Hellingman J. E., Anal. Chem. 23, 646 (1951). — 7. Bowen C. V., Edwards F. I., Anal. Chem. 22, 706 (1950). — 8. Josepovits Gy., Privitzer Katalin G., Magyar Kémiai Folyóirat 59, 161—165 (1953). — 9. Kováč J., Chem. Zvesti 8, 590—595 (1954). — 10. Metcalf R. L., March R. B., Science 117, 527 (1953). — 11. Bátora V., *Kandidátska dizertačná práca VÚAgT*, Bratislava 1956.

Došlo do redakcie 27. 9. 1956