

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕТУЧИХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АМИНОВ В ВОДЕ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА ПОСЛЕ ПАРОФАЗНОЙ МИКРОЭКСТРАКЦИИ

© 2019 г. Ю. Малинина<sup>1</sup>\*, М. Я. Каменцев<sup>1</sup>, И. И. Тимофеева<sup>1</sup>,  
Л. Н. Москвин<sup>1</sup>, Н. М. Якимова<sup>1</sup>, И. Д. Кучумова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии  
198504 Россия, Санкт-Петербург, Петродворец, Университетский просп., 26

\*E-mail: cinse@mail.ru

Поступила в редакцию 14.01.2018 г.

После доработки 14.05.2018 г.

Принята к публикации 15.01.2019 г.

Разработана методика одновременного определения аммония и семи летучих алкиламинов (метил-амина, диметиламина, триметиламина, этиламина, *n*-пропиламина, изопропиламина и диэтиламина) в водных средах методом капиллярного электрофореза после парофазной микроэкстракции в каплю 0.01 М H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> объемом 5 мкл. В качестве фонового электролита для косвенного фотометрического детектирования выбран раствор, содержащий 2 мМ акридина, 20 мМ уксусной кислоты, 0.05% Tween 20. Ввод пробы – гидродинамический. Методика опробована на образцах питьевой воды с добавкой аммония и алкиламинов. Правильность результатов подтверждена способом введения–найдено. Разработанная методика обеспечивает диапазон определяемых концентраций от 0.003 до 20 мг/л.

**Ключевые слова:** капиллярный электрофорез, алкиламины, парофазная микроэкстракция.

**DOI:** 10.1134/S0044450219070181

Короткоцепочечные алифатические амины повсеместно встречаются в водных средах из-за их широкого применения в качестве промежуточных соединений в химической и фармацевтической промышленности [1]. Указанные соединения образуются в процессе производства пластмасс, красителей, лекарственных средств, ингибиторов окисления и взрывчатых веществ [2], а также в нефтехимической промышленности [3]. Кроме того, алифатические амины являются распространенными компонентами биологических систем в качестве продуктов разложения органических материалов, таких как аминокислоты и белки. Помимо проблем гигиены, из-за резкого запаха указанные соединения представляют опасность для жизни человека, поскольку являются раздражителями кожи, глаз, слизистой оболочки и дыхательных путей. Алкиламины могут реагировать с определенными азотсодержащими соединениями с образованием нитрозоаминов, которые являются канцерогенами. Таким образом, существует необходимость определения алифатических аминов в различных матрицах [4]. Содержание ряда органических аминов нормировано в питьевой воде централизованных систем питьевого водоснабжения согласно санитарным

нормам [5] и в водных объектах рыбохозяйственного значения [6].

Для определения алифатических аминов в воде, как правило, используют хроматографические методы. В частности, описан ряд методов определения аминов с помощью газовой (ГХ) [7, 8] и жидкостной хроматографии (ЖХ) [9, 10]. Общая черта данных способов – необходимость длительной подготовки пробы. В ЖХ для увеличения чувствительности часто используют дериватизацию, поскольку алифатические амины не обладают выраженными УФ-поглощением или флуоресцентными свойствами. Как правило, хроматографические методики включают стадию предварительного концентрирования и отделения аналитов от матрицы. Концентрирование алифатических аминов представляет собой трудную задачу из-за их высокой полярности и растворимости в воде [11–14].

В качестве методов пробоподготовки используют жидкостно–жидкостную экстракцию [15, 16], твердофазную экстракцию [17, 18], ион-парную экстракцию [19] и т.д. Большинство указанных методов длительны и требуют использования значительных объемов дорогостоящих и токсичных реагентов, в частности, органических раство-

рителей, таких как толуол, четыреххлористый углерод, хлористый метилен [12, 20].

Один из альтернативных методов определения аминов, позволяющий преодолеть перечисленные ограничения, — метод капиллярного электрофореза (КЭ). К его преимуществам относятся низкий расход реактивов и отсутствие необходимости дериватизации аналитов с низким поглощением в УФ-области, благодаря использованию косвенного фотометрического детектирования. В работах [21, 22] предложен подход, позволяющий существенно повысить чувствительность косвенного фотометрического детектирования аминов при их определении методом капиллярного электрофореза.

Перспективно сочетание метода КЭ со способами подготовки пробы, исключающими использование токсичных растворителей и реагентов. Так, описано [23] определение ряда аминов в пробах со сложной матрицей методом капиллярного электрофореза после отгонки с водяным паром. Ограничением данного подхода является высокая нижняя граница диапазона определяемых содержаний (0.25 мг/л).

В полной мере реализовать преимущества КЭ при определении аминов в пробах со сложной матрицей поможет применение современных методов подготовки пробы, таких как парофазная микроэкстракция. Миниатюризация процедуры жидкостно-жидкостной экстракции за счет существенного уменьшения соотношения объемов растворителя и водной фазы привела к появлению методов микроэкстракции. Особенностью микроэкстракционных методов является то, что лишь небольшие фракции аналитов экстрагируются или предварительно концентрируются для последующего определения [24]. Парофазную микроэкстракцию можно осуществить с помощью простых устройств, в том числе обычного микрошприца [25]. Вода и водные растворы также могут являться экстрагентами для концентрирования летучих и водорастворимых аналитов, таких как алкиламины [26]. Благодаря широкому выбору экологически безопасных полярных растворителей для экстракции, метод парофазной микроэкстракции является наиболее привлекательным.

Для определения летучих аналитов микрокаплю соответствующего растворителя помещают в пространство над раствором образца [27, 28] либо в поток пара образца [29–31]. Парофазная микроэкстракция подходит и для экстракции летучих соединений из образцов со сложной матрицей [32, 33]. Так, например, в работе [34] предложено одновременное определение этиламина, изопропиламина, пропиламина, диэтиламина и бутиламина с помощью ГХ после парофазной микроэкстракции в каплю бензилового спирта.

Цель настоящей работы — изучение возможности одновременного определения микроконцентраций ряда низкомолекулярных алкиламинов в водных средах методом капиллярного электрофореза после парофазной микроэкстракции.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Реагенты и аппаратура.** Растворы алкиламинов готовили путем разбавления исходного раствора соответствующего алкиламина с концентрацией 1 г/л водой. Градуировочные зависимости строили по водным растворам соответствующих алкиламинов и аммония в диапазоне концентраций от 0.01 до 1 мг/л. Все реактивы имели квалификацию не ниже х. ч. Для приготовления всех растворов использовали бидистиллят.

Исследования проводили на приборе для капиллярного электрофореза Капель-104Т (Люм-экс) с фотометрическим детектированием при 254 нм. Использовали немодифицированный кварцевый капилляр (внутренний диаметр 75 мкм, общая длина 60 см, эффективная длина 50 см). Разделение выполняли при напряжении 20 кВ и температуре 20°C с гидродинамическим вводом пробы: при 30 мбар в течение 10 с. В качестве фонового электролита использовали раствор, содержащий 2 мМ акридина, 20 мМ уксусной кислоты, 0.05% Tween 20 [21, 22].

В начале и в конце рабочего дня капилляр последовательно промывали по 5 мин водой, 1 М HCl, водой, 0.5 М раствором NaOH, водой. Перед каждым анализом капилляр промывали ведущим электролитом в течение 3 мин. Разделение проводили при положительной полярности. Электроосмотический поток был направлен в сторону катоды.

**Методика проведения парофазной микроэкстракции.** К аликвоте пробы объемом 2 мл добавляли раствор  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  с концентрацией 0.3 г/мл, полученный раствор помещали в стеклянный флакон объемом 10 мл, снабженный мембраной, подщелачивали 1 мл 0.1 М раствора NaOH. Флакон помещали в ультразвуковую ванну, мембрану прокалывали иглой хроматографического шприца и выдавливали каплю 0.01 М  $\text{H}_3\text{PO}_4$  объемом 5 мкл. Экстракцию проводили в течение 60 мин при 70°C. После окончания парофазной микроэкстракции каплю поглотителя (5 мкл) переносили в пробирку Эппендорфа, разбавляли до 100 мкл бидистиллятом и анализировали полученный раствор методом капиллярного электрофореза.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучали возможность одновременного определения аммония и 7 летучих алкиламинов (ме-

тиламина, диметиламина, триметиламина, этиламина, пропиламина, изопропиламина и диэтиламина) в пробах питьевых вод, в том числе с добавкой аммония и алкиламинов, методом КЭ после парофазной микроэкстракции.

Исследовали влияние на парофазную микроэкстракцию времени, температуры, объема капли поглотителя, концентрации растворов NaOH и  $H_3PO_4$ . В первую очередь изучали влияние концентрации раствора NaOH (0.01–1 М), необходимой для перевода иона аммония и алкиламинов в летучую форму, а также концентрации  $H_3PO_4$  (0.01–1 М) в поглотительном растворе. Концентрации 0.1 М NaOH и 0.01 М  $H_3PO_4$  выбрали в качестве оптимальных. Дальнейшее увеличение концентрации раствора NaOH не приводит к увеличению извлечения аналитов в каплю. При увеличении концентрации  $H_3PO_4$  поглотительный раствор, содержащий аналиты, приобретает сильноокислую реакцию среды, что негативно сказывается на результатах анализа методом КЭ и не приводит к увеличению извлечения аналитов.

В качестве оптимального способа перемешивания раствора во время парофазной микроэкстракции выбрали ультразвуковое перемешивание. Изучали также влияние температуры в диапазоне от 30 до 70°C и продолжительности парофазной экстракции (15–60 мин). В качестве оптимальных выбрали перемешивание раствора пробы в ультразвуковой ванне при 70°C в течение 60 мин.

Установлено, что величина аналитического сигнала увеличивается с увеличением объема капли. Однако капли объемом более 5 мкл нестабильны и отрываются от кончика иглы шприца в процессе парофазной микроэкстракции. Таким образом, объем капли 5 мкл выбрали в качестве оптимального.

Исследовали влияние добавки раствора  $Na_2SO_4$  на высаливание аналитов [35, 36]. Установлено, что при концентрации раствора  $Na_2SO_4$  0.3 г/мл извлечение аналитов увеличивается на 15%, а при более высокой концентрации  $Na_2SO_4$  извлечение не изменяется, поэтому в дальнейшем использовали добавку раствора  $Na_2SO_4$  с концентрацией 0.3 г/мл.

При КЭ пробы после парофазной микроэкстракции пики всех аналитов разделены, однако пики некоторых аналитов уширены, возможно, из-за взаимодействия между аминами и стенками капилляра. Уширение пиков для всех аминов примерно одинаково. Известно, что неионогенное поверхностно-активное вещество Tween 20 уменьшает адсорбцию аналитов на поверхности капилляра [37, 38], поэтому Tween 20 ввели в состав фонового электролита. Как видно

**Таблица 1.** Предельно допустимые концентрации алифатических аминов в питьевой воде и воде рыбохозяйственного значения

Аналит	ПДК, мг/л	
	I*	II*
Аммоний	–	0.5
Метиламин	1.0	0.05
Диметиламин	0.1	0.005
Триметиламин	2.0	0.01
Этиламин	0.5	–
<i>n</i> -Пропиламин	0.5	–
Изопропиламин	2.0	–
Диэтиламин	2.0	0.05

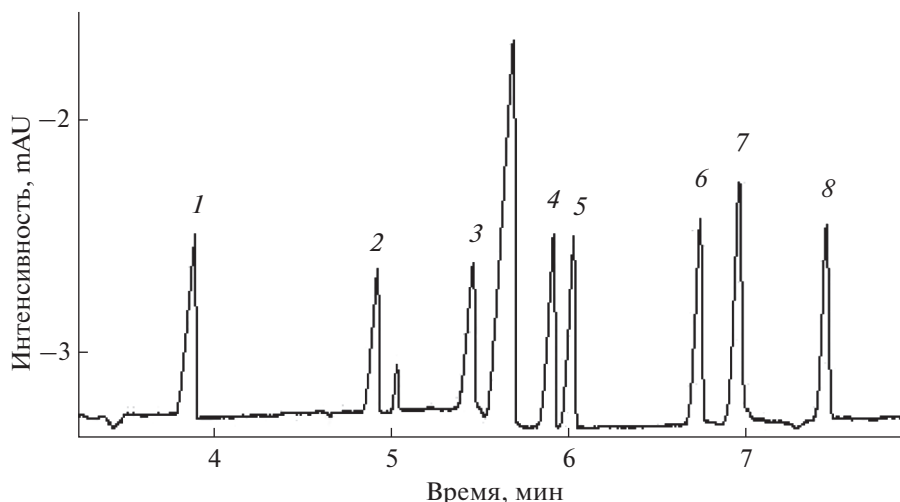
\* I – ПДК в питьевой воде согласно СанПин 2.1.4.1074-01 [5].

\*\* II – ПДК в воде водных объектов рыбохозяйственного значения [6].

из рисунка, после добавления неионогенного ПАВ в раствор электролита уширение пиков не наблюдается.

Диапазон линейности градуировочных зависимостей для аммония, метиламина, диметиламина, триметиламина, этиламина, *n*-пропиламина, изопропиламина и диэтиламина составил от 0.01 до 1 мг/л. Диапазоны определяемых содержаний для всех аналитов с учетом их концентрирования парофазной микроэкстракцией составили 0.003–20 мг/л. Как видно из табл. 1, нижние границы диапазонов определяемых содержаний (рассчитаны при отношении сигнал/шум, равном 10 : 1) во всех случаях ниже значений ПДК аналитов в питьевой воде и в воде водных объектов рыбохозяйственного значения. Как видно из табл. 1, достигнутые значения нижней границы диапазона определяемых концентраций позволяют определять большинство перечисленных алкиламинов, в питьевой воде и в воде рыбохозяйственного значения на уровне ½ПДК.

Разработанная методика опробована при анализе проб питьевой воды и модельных растворов. Данную методику также можно применять для определения иона аммония и алкиламинов в природной и сточной водах. На рис. 1 представлена типичная электрофореграмма пробы питьевой воды с добавкой аналитов после парофазной микроэкстракции. Для оценки правильности результатов использовали способ введено–найдено. В анализируемые образцы воды вводили известный объем стандартного раствора смеси ам-



**Рис. 1.** Электрофореграмма пробы питьевой воды с добавкой аммония и алкиламинов после парофазной микроэкстракции. Состав ведущего электролита: 2 мМ акридина, 20 мМ уксусная кислота, 0.05% Tween 20. Ввод пробы: 30 мбар в течение 10 с. Длина волны детектора 254 нм. 1 – аммоний, 2 – метиламин, 3 – диметиламин, 4 – триметиламин, 5 – этиламин, 6 – *n*-пропиламин, 7 – изопрпиламин, 8 – диэтиламин.

мония и 7 алкиламинов, проводили парофазную микроэкстракцию и электрофоретический анализ полученного раствора. Результаты определения алкиламинов без добавок и с добавками стандартных растворов (табл. 2) свидетельствуют о правильности методики.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 16-13-10117.

**Таблица 2.** Результаты определения алкиламинов в пробах водопроводной воды ( $n = 5$ ,  $P = 0.95$ )

Аналит	Найдено, мг/л	
	I*	II**
Аммоний	0.11 ± 0.02	1.2 ± 0.2
Метиламин	0.105 ± 0.007	1.1 ± 0.2
Диметиламин	0.097 ± 0.008	0.96 ± 0.09
Триметиламин	0.09 ± 0.01	1.0 ± 0.1
Этиламин	0.09 ± 0.01	1.0 ± 0.1
<i>n</i> -Пропиламин	0.08 ± 0.02	0.9 ± 0.2
Изопрпиламин	0.09 ± 0.01	0.9 ± 0.2
Диэтиламин	0.09 ± 0.01	0.9 ± 0.2

\* Введено 0.10 ± 0.01 мг/л аналита.

\*\* Введено 1.0 ± 0.1 мг/л аналита.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhao Y.Y., Cai L.S., Jing Z.Z., Wang H., Yu J.X., Zhang H.S. Determination of aliphatic amines using N-succinimidyl benzoate as a new derivatization reagent in gas chromatography combined with solid-phase microextraction // J. Chromatogr. A. 2003. V. 1021. P. 175.
2. Psillakis E., Kalogerakis N. Application of solvent microextraction to the analysis of nitroaromatic explosives in water samples // J. Chromatogr. A. 2001. V. 907. P. 211.
3. Belloli R., Barlcatta B., Bolzacchini E., Mcinaranli S., Orlandini M., Rindone B. Determination of toxic nitrophenols in the atmosphere by high-performance liquid chromatography // J. Chromatogr. A. 1999. V. 846. P. 277.
4. Namiesnik J., Jastrzebska A., Zygmunt B. Determination of volatile aliphatic amines in air by solid-phase microextraction coupled with gas chromatography with flame ionization detection // J. Chromatogr. A. 2003. V. 22. P. 565.
5. Питьевая вода и водоснабжение населенных мест. СанПиН 2.1.4.1074-01, 2010.
6. Об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения. Приказ № 16326 Федерального агентства по рыболовству.
7. Luonga J., Shellie R.A., Cortesa H., Gras R., Hayward T. Ultra-trace level analysis of morpholine, cyclohexylamine, and diethylaminoethanol in steam condensate by gas chromatography with multi-mode inlet, and flame ionization detection // J. Chromatogr. A. 2012. V. 1229. P. 223.

8. *Kataoka H.* Derivatization reactions for the determination of amines by gas chromatography and their applications in environmental analysis // *J. Chromatogr. A.* 1996. V. 733. P. 19.
9. *Meseguer Lloret S., Molins Legua C., Verdu Andres J., Campins Falco P.* Sensitive determination of aliphatic amines in water by high-performance liquid chromatography with chemiluminescence detection // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1035. P. 75.
10. *Sahasrabuddhey B., Archana Jain and Krishna K. Verma.* Determination of ammonia and aliphatic amines in environmental aqueous samples utilizing pre-column derivatization to their phenylthioureas and high performance liquid chromatography // *Analyst.* 1999. 124. P. 1017.
11. *Terashi A., Hanada Y., Kido A., Shinohara R.* Determination of primary and secondary aliphatic amines in the environment as sulphonamide derivatives by gas chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 1990. V. 503. P. 369.
12. *Pietsch J., Hampel H., Schmidt W., Brauch H.-J., Worch E.* Determination of aliphatic and alicyclic amines in water by gas and liquid chromatography after derivatization by chloroformates // *Fresenius J. Anal.Chem.* 1996. V. 355. P. 164.
13. *Saleh M.I., Pork F.W.* Separation of primary and secondary amines as their sulfonamide derivatives by reversed-phase high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 1997. V. 763. P. 173.
14. *Sachers F., Lenz S., Brauch H.I.* Analysis of primary and secondary aliphatic amines in waste water and surface water by gas chromatography-mass spectrometry after derivatization with 2,4-dinitrofluorobenzene or benzenesulfonyl chloride // *J. Chromatogr. A.* 1997. V. 764. P. 85.
15. *Weiss T., Angerer J.* Simultaneous determination of various aromatic amines and metabolites of aromatic nitro compounds in urine for low level exposure using gas chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2002. V. 778. P. 179.
16. *Sarafraz Yazdi A., Eshaghi Z.* Liquid-liquid-liquid phase microextraction of aromatic amines in water using crown ethers by high-performance liquid chromatography with monolithic column // *Talanta.* 2005. V. 66. P. 664.
17. *Meseguer Lloret S., Molins Legua C., Campins Falco P.* Preconcentration and dansylation of aliphatic amines using C18 solid-phase packings: Application to the screening analysis in environmental water samples // *J. Chromatogr. A.* 2002. V. 978. P. 59.
18. *Abalos M., Bayona J.M., Ventura F.* Development of a solid-phase microextraction GC-NPD procedure for the determination of free volatile amines in wastewater and sewage-polluted waters // *Anal. Chem.* 1999. V. 71. P. 3531.
19. *Akyuz M., Ata S.* Simultaneous determination of aliphatic and aromatic amines in water and sediment samples by ion-pair extraction and gas chromatography-mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1129. P. 88.
20. *Rezaee M., Assadi Y., Hosseini M.-R.M., Aghaee E., Ahmadi F., Berijani S.* Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1116. P. 1.
21. *Малинина Ю., Каменцев М.Я., Москвин Л.Н., Якимова Н.М., Кучумова И.Д.* Определение алкил- и алканоламинов в питьевой и природной водах методом капиллярного электрофореза с изотахофоретическим on-line концентрированием // *Журн. аналит. химии.* 2017. Т. 72. № 12. С. 1099. (*Malinina Yu., Kamentsev M.Ya., Moskvina L.N., Yakimova N.M., Kuchumova I.D.* Determination of alkyl- and alkanolamines in drinking and natural waters by capillary electrophoresis with isotachophoretic on-line preconcentration // *J. Analyt. Chem.* 2017. V. 72. № 12. P. 1239.)
22. *Malinina J., Kamencev M., Tkach K., Yakimova M., Kuchumova I., Moskvina L.* Large-volume sample stacking for the analysis of low molecular mass amines in steam water by CE using novel highly absorbing probe for indirect UV detection // *Microchem. J.* 2018. V. 137. P. 208.
23. *Каменцев М.Я., Москвин Л.Н., Малинина Ю., Якимова Н.М., Кучумова И.Д.* Определение алкиламинов в водных средах методом капиллярного электрофореза // *Журн. аналит. химии.* 2016. Т. 71. № 9. С. 951. (*Kamentsev M.Ya., Moskvina L.N., Malinina Yu., Yakimova N.M., Kuchumova I.D.* Determination of alkylamines in aqueous media by capillary electrophoresis // *J. Analyt. Chem.* 2016. V. 71. № 9. P. 912.)
24. *Psillakis E., Kalogerakis N.* Application of solvent microextraction to the analysis of nitroaromatic explosives in water samples // *Trends Anal. Chem.* 2003. V. 22. P. 565.
25. *Tankeviciute A., Kazlauskas R., Vickaskaite V.* Headspace extraction of alcohols into a single drop // *Analyst.* 2001. V. 126. P. 1674.
26. *Jermak S., Pranaityte B., Padarauskas A.* Headspace single-drop microextraction with in-drop derivatization and capillary electrophoretic determination for free cyanide analysis // *Electrophoresis.* 2006. V. 27. P. 4538.
27. *Theis A.L., Waldack A.J., Hansen S.M., Jeannot M.A.* Headspace solvent microextraction // *Anal. Chem.* 2001. V. 73. P. 5651.
28. *Przyjazny A., Kokosa J.M.* Analytical characteristics of the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in water by headspace solvent microextraction // *J. Chromatogr. A.* 2002. V. 977. P. 143.
29. *Liu S., Dasgupta P.K.* Analytical chemistry in a drop // *Anal. Chem.* 1995. V. 67. P. 2042.
30. *Milani M.R., Neto J.A.C., Cardoso A.A.* colorimetric determination of sulfur dioxide in air using a droplet collector of Malachite Green solution // *Microchem. J.* 1999. V. 62. P. 273.
31. *Pretto A., Milani M.R., Cardoso A.A.* Colorimetric determination of formaldehyde in air using a hanging drop of chromotropic acid // *J. Environ. Monit.* 2001. V. 2. P. 566.
32. *Colombini V., Bancon-Montigny C., Yang L., Maxwell P.* Headspace single-drop microextraction for the detection of organotin compounds // *Talanta.* 2004. V. 63. P. 555.

33. *Li N., Deng C., Yin X., Yao N.* Gas chromatography-mass spectrometric analysis of hexanal and heptanal in human blood by headspace single-drop microextraction with droplet derivatization // *Anal. Biochem.* 2005. V. 342. P. 318.
34. *Kaykhaii M., Nazari S., Chamsaz M.* Determination of aliphatic amines in water by gas chromatography using headspace solvent microextraction // *Talanta.* 2005. V. 65. P. 223.
35. *Leggett D.C., Jenkins T.F., Miyares P.H.* Salting-out solvent extraction for preconcentration of neutral polar organic solutes from water // *Anal. Chem.* 1990. V. 62. P. 1355.
36. *Yamini Y., Hojjati M., Haji-Hoseini M., Shamsipur M.* Headspace solvent microextraction: A new method applied to the preconcentration of 2-butoxyethanol from aqueous solutions into a single microdrop // *Talanta.* 2004. V. 62. P.265.
37. *Beckers J.L.* Transfer ratio in indirect UV detection in capillary zone electrophoresis: A mathematical approach // *J. Chromatogr. A.* 1999. V. 844. P. 321.
38. *Mori M., Hu W., Haddad P.R., Fritz J.S., Tanaka K., Tsue H., Tanaka S.* Capillary electrophoresis using high ionic strength background electrolytes containing zwitterionic and non-ionic surfactants and its application to direct determination of bromide and nitrate in seawater // *Anal. Bioanal. Chem.* 2002. V. 372. P. 181.