

УДК 623.459.44 : 543.544

Газохроматографическое определение пикограммовых количеств β, β' -дихлордиэтилсульфида

Доктор химических наук, профессор **И. В. Рыбальченко**, кандидат технических наук **В. И. Цехмистер**, **С. В. Новиков**

Систематические исследования воздействия на биологические системы токсичных веществ в сверхмалых дозах можно осуществить лишь при наличии точных и надежных методов анализа, обеспечивающих воспроизводимость результатов измерения. Интервал концентраций физиологически активных веществ, представляющий интерес для проведения такого рода исследований, составляет 10^{-9} — 10^{-13} М [1]. Практика приготовления высокоразбавленных растворов (по принципу последовательного разбавления) требует для контроля концентрации с приемлемой погрешностью методов анализа с нижней границей интервала измерения не выше 10^{-8} М.

В настоящей статье приводятся результаты разработки методики газохроматографического определения β, β' -дихлордиэтилсульфида — серного иприта. Исследование биологического действия иприта в сверхмалых дозах имеет особо важное практическое значение в связи с планируемым широкомасштабным уничтожением запасов этого отравляющего вещества.

Напомним, что вещества кожно-нарывного действия группы серного иприта были одними из первых боевых отравляющих веществ, примененных в ходе Первой мировой войны вблизи реки Ипр во Франции (отсюда широко распространенное название “иприт”). Промышленный серный иприт обычно включает большое количество гомологов и он более токсичен, чем перегнанный иприт.

Чистый иприт представляет собой бесцветную, без запаха маслянистую жидкость, промышленный продукт имеет окраску от желтой до коричневой и обладает слабым запахом, обусловленным наличием примесей. При нагревании до температуры кипения (217 °С) иприт подвергается термической деструкции с образованием продуктов, обладающих сильным чесночным и горчичным запахом.

Иприт является стойким труднолетучим веществом (давление насыщенного пара составляет 0,07 мм рт. ст. при 20 °С). β, β' -Дихлордиэтилсульфид малорастворим в воде, причем в воде гидролизует на 50% уже за 4—13 мин при 25 °С, но легко растворим и устойчив в органических растворителях. Обладает крайне высокой проникающей способностью по отношению к различным материалам, включая резины, пластмассы, дерево, бетон, при этом сохраняет свои токсические свойства.

Первые публикации по хроматографическому анализу иприта появились в середине 60-х годов. С применением разработанных к тому времени пламенно-ионизационного и электронно-захватного детекторов были созданы приемлемые по чувствительности методики для идентификации и количественного анализа этого соединения. В настоящее время наряду с электронно-захватным детектором широкое применение для анализа иприта нашел пламенно-фотометрический детектор со светофильтром (394 нм), реже используются кулонометрический детектор, детектор проводимости Холла и люминесцентный детектор. Однако непревзойденным по чувствительности остается электронно-захватный детектор [2].

Иприт как объект анализа не имеет аномалий в хроматографическом поведении по сравнению с другими неполярными сероорганическими соединениями, что обеспечивает возможность его анализа с помощью традиционных хроматографических методик. Показана эффективность применения как набивных колонок длиной 0,6—3,0 м [2—5], так и капиллярных колонок длиной до 15 м для анализа иприта в достаточно сложных матрицах [6—10]. Для отделения иприта от компонентов матрицы рекомендовано использовать различные стандартные хроматографические фазы: SE-30 [3], FFAP [4], QF-1 [2], SE-54 [7].

Особое развитие методы хроматографического анализа иприта получили после 1982 года, когда в результате его боевого применения в ходе ирано-иракской войны возникла потребность в массовых анализах проб, содержащих следы этого отравляющего вещества. Были предложены методики, обеспечивающие определение иприта в биологических пробах с пределом обнаружения на уровне биллионных частей [6, 9, 10—12].

Другим стимулом разработки методов химико-аналитического контроля иприта явилась Международная конвенция о запрещении химического оружия, подписанная в 1993 году и вступившая в силу в 1997 году. Такие методы необ-

ходимы для использования их как в процессах уничтожения химического оружия и обеспечения экологической безопасности, так и для проведения международного контроля за исполнением самой Конвенции.

Из большого числа разработанных к настоящему времени газохроматографических методик определения иприта отметим те, которые обладают наибольшей чувствительностью.

В работе [5] предложена методика, реализуемая с использованием набивной колонки и пламенно-ионизационного детектора, порог ее чувствительности находится на уровне единиц микрограммов.

Применение стеклянной набивной колонки с усовершенствованным пламенно-ионизационным детектором позволило достичь предела обнаружения в 40 нанограммов [2]. В случае использования 15-метровой кварцевой капиллярной колонки с фазой SE-54 порог чувствительности составил 10 нанограммов [9]. Такая же чувствительность была достигнута при использовании набивной колонки, но в сочетании с пламенно-фотометрическим детектором [13].

Рекордный уровень чувствительности к иприту имеет методика, предложенная в [11]. Авторы продемонстрировали возможность прямого газохроматографического определения иприта в количестве порядка 10 пикограммов на 25-метровой капиллярной колонке с электронно-захватным детектором. Однако и такой порог чувствительности как минимум на один порядок не достигает требуемого уровня (концентрация 10^{-8} М в варианте газохроматографического анализа соответствует пределу обнаружения порядка 1 пг).

Уровень в 10 пг не был превзойден и в последующие годы, даже при использовании в качестве детектора масс-спектрометра высокого разрешения [14]. Что касается официально принятых методик, аттестованных для практики массовых измерений, то нормируемый для них порог чувствительности не достигает и этих значений. Это обусловлено необходимостью иметь

определенный “запас прочности” для обеспечения требуемой надежности. Так, официально принятая в Министерстве обороны США методика газохроматографического определения иприта в пробах имеет порог чувствительности на уровне 100 нанограммов [15], а разработанная ранее отечественная методика [16] аттестована с порогом чувствительности 100 пикограммов.

Таким образом, приведенные химико-аналитические сведения показывают, что разработка методики количественного определения иприта с порогом чувствительности на уровне 1 пг не является тривиальной задачей, и она не может быть решена путем использования имеющихся технико-аналитических разработок.

В плане решения этой задачи нами проведены исследования по трем направлениям, нацеленным на оптимизацию режима газохроматографического анализа, разработку эффективной методики концентрирования анализируемого вещества и оптимизацию аппаратного оформления методики. Исследования проводились на газожидкостном хроматографе HP-5890 (серия II) с электронно-захватным детектором, сопряженным с кварцевой капиллярной колонкой HP-1 (длина 25 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина пленки неподвижной жидкой фазы 0,17 мкм) и системой деления потока газа-носителя с автоматической настройкой.

Для нахождения оптимальных условий газохроматографического анализа растворов иприта оценивалось влияние на чувствительность хроматографической системы скорости нагрева термостата колонки и расхода газа-носителя (гелий). Хроматографированию подвергали раствор β , β' -дихлордиэтилсульфида ($1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл) в тетрагидрофуране высокой степени чистоты (этот растворитель оказался предпочтительным для дальнейших биологических исследований). Результаты проведенных измерений представлены в табл. 1 и на рис. 1 и 2.

Таблица 1

Результаты газохроматографического анализа β , β' -дихлордиэтилсульфида в растворе тетрагидрофурана ($1 \cdot 10^{-3}$ мг/мл) в различных режимах.

Усредненные данные трех независимых измерений

Варьируемые условия анализа	Время удерживания вещества, мин	Площадь пика, усл. ед.	Высота пика, усл. ед.	Симметричность пика
Скорость нагрева термостата колонки, °С/мин				
5	9,71	43510	86	0,04
10	8,54	58740	238	0,78
20	7,58	60120	175	1,20
Расход газа-носителя, мл/мин				
0,5	8,82	43510	185	0,42
1,0	8,54	58812	238	0,78
2,0	8,27	60120	257	1,33

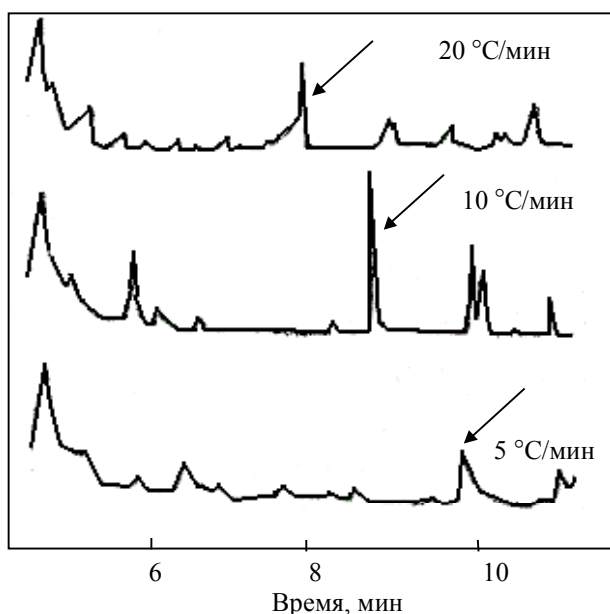


Рис. 1. Хроматограммы раствора β,β' -дихлордиэтилсульфида, полученные при различных скоростях нагрева термостата колонки

Как видно из приведенных данных, предпочтительным является режим хроматографирования со скоростью нагрева термостата колонки $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{мин}$ и при расходе газа-носителя $1,0\text{ мл}/\text{мин}$.

С целью определения порога чувствительности используемой хроматографической системы (минимально детектируемой концентрации) были проанализированы растворы β,β' -дихлордиэтилсульфида в тетрагидрофуране с концентрациями в интервале от $0,1\text{ мг}/\text{мл}$ ($6,3 \cdot 10^{-4}\text{ M}$) до $1 \cdot 10^{-6}\text{ мг}/\text{мл}$ ($6,3 \cdot 10^{-9}\text{ M}$). Результаты измерений приведены в табл. 2 и на рис. 3.

Результаты исследований показывают, что значимый уровень сигнала детектора (соотноше-

Таблица 2

Результаты газохроматографического определения в растворе β,β' -дихлордиэтилсульфида.

Усредненные данные пяти независимых измерений

Концентрация вещества, мг/мл	Площадь пика, усл. ед.
$1 \cdot 10^{-1}$ ($6,3 \cdot 10^{-4}\text{ M}$)	588000
$1 \cdot 10^{-2}$	94000
$1 \cdot 10^{-3}$	13260
$1 \cdot 10^{-4}$	1350
$1 \cdot 10^{-5}$	110
$1 \cdot 10^{-6}$ ($6,3 \cdot 10^{-9}\text{ M}$)	63

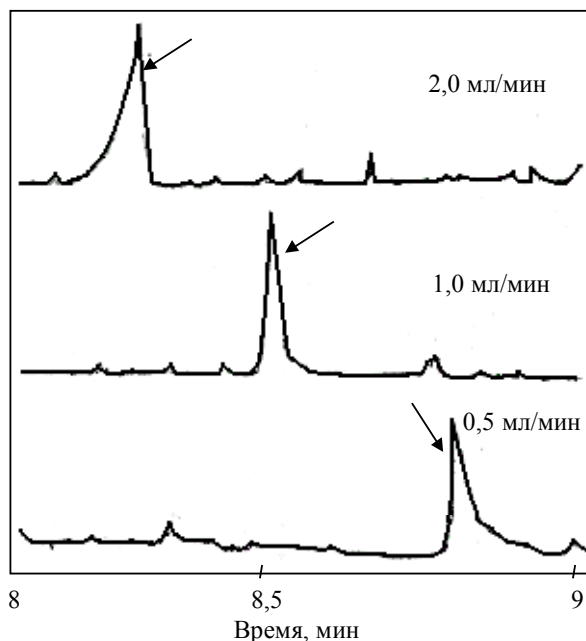


Рис. 2. Хроматограммы раствора β,β' -дихлордиэтилсульфида, полученные при различных скоростях расхода газа-носителя

ние сигнал/шум $S/N = 3$) достигается при концентрации $1 \cdot 10^{-5}\text{ мг}/\text{мл}$ ($6,3 \cdot 10^{-8}\text{ M}$), что не соответствует требуемому уровню ($1 \cdot 10^{-8}\text{ M}$). Для возможности определения более низких концентраций иприта необходима стадия концентрирования.

Наиболее распространенными методами концентрирования растворенных веществ являются [17, 18]: упаривание растворов, рекстракция, перегонка с паром. Для целей количественного

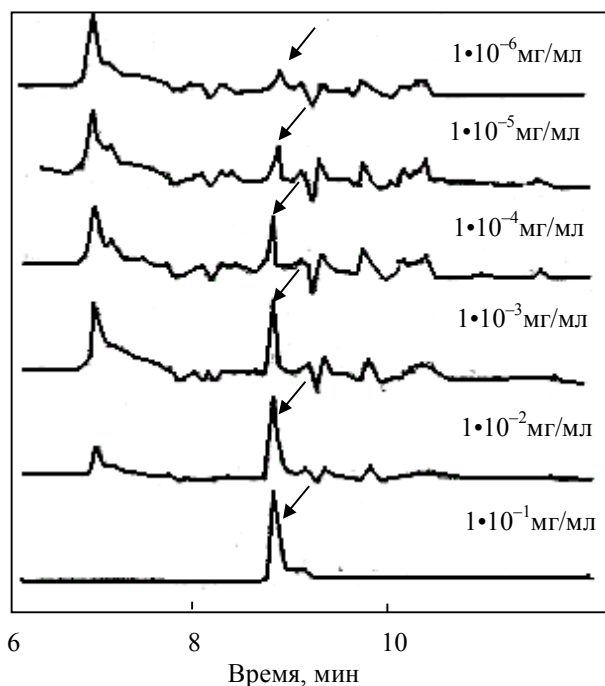


Рис. 3. Хроматограммы серии растворов β,β' -дихлордиэтилсульфида

анализа выбор метода концентрирования определяется требованием максимального снижения потерь анализируемого вещества. Применительно к разрабатываемой методике предпочтение было отдано методу упаривания раствора в закрытой системе с использованием аппарата Кудерна—Даниша, состоящего из микрореактора и обратного шарикового холодильника. Этот прибор при правильно выбранных режимах позволяет упаривать раствор вплоть до нескольких микролитров практически без потерь анализируемого компонента [17].

При отработке режима концентрирования растворов β, β' -дихлордиэтилсульфида в тетрагидрофуране контролировались следующие параметры: температура нагрева раствора, которая должна обеспечивать сохранение анализируемого компонента в исходном состоянии; объем исходного раствора, позволяющий добиться необходимого коэффициента концентрирования; продолжительность концентрирования.

Температура нагревания исходного раствора выбиралась, исходя из температуры кипения иприта (217°C) и растворителя (тетрагидрофурана, $65,6^\circ\text{C}$). Как правило, температура внешнего нагревателя должна на $10\text{—}15^\circ\text{C}$ превышать температуру кипения отгоняемого растворителя [18]. В нашем случае температура в микрореакторе аппарата поддерживалась на уровне 75°C .

Для достижения коэффициента концентрирования, равного 10 (что требуется для измерения концентрации иприта по разрабатываемой методике на уровне 10^{-8} M), 3 мл исходного раствора упаривали до объема 0,3 мл.

Время концентрирования зависит от конструкции выпарного аппарата и может быть оценено только экспериментально. Здесь только отметим, что в используемом нами аппарате емкость микрореактора составляла 4 мл.

На рис. 4 представлена градуировочная зависимость отклика электронно-захватного детектора в составе газохроматографической системы от концентрации β, β' -дихлордиэтилсульфида

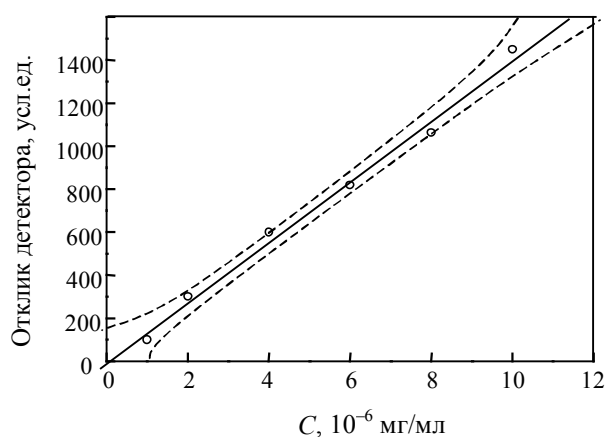


Рис. 4. Зависимость отклика электронно-захватного детектора от концентрации β, β' -дихлордиэтилсульфида

да, полученная с учетом коэффициента концентрирования пробы.

Для оценки эффективности процедуры концентрирования и методики в целом была проведена серия контрольных анализов растворов β, β' -дихлордиэтилсульфида с концентрацией $1 \cdot 10^{-8}\text{ M}$, приготовленных гравиметрическим методом с последующим разбавлением. Часть результатов этих измерений приведена в табл. 3.

Как следует из представленных данных, погрешность определения концентрации β, β' -дихлордиэтилсульфида в данной серии измерений не превышает 6%. В ходе эксперимента фиксировалось время, затрачиваемое на процедуру концентрирования. В среднем на процесс упаривания раствора от 3 мл до 0,3 мл требуется 30 мин.

По результатам исследований разработана методика измерения низких концентраций β, β' -дихлордиэтилсульфида в растворе тетрагидрофурана. Измерение производится с помо-

Таблица 3

Результаты газохроматографического измерения концентрации β, β' -дихлордиэтилсульфида в растворах в режиме концентрирования пробы.

Заданная концентрация (по условиям приготовления раствора) $1 \cdot 10^{-8}\text{ M}$.
Усредненные данные трех независимых измерений

№ опыта	Площадь пика, усл. ед.	Измеренная концентрация, M	Относительная погрешность, %
1	220	$1,014 \cdot 10^{-8}$	1,4
2	215	$0,943 \cdot 10^{-8}$	5,7
3	223	$1,018 \cdot 10^{-8}$	1,8

щью газохроматографической системы с электронно-захватным детектором и включает стадию десятикратного концентрирования пробы.

Процесс хроматографирования выполняется при следующих условиях:

температура испарителя	250 °С
начальная температура термостата колонки	40 °С
скорость подъема температуры	10 °С/мин
температура интерфейса	280 °С
объемная скорость газаносителя (He)	1,0 мл/мин
объем пробы	1 мкл

Предлагаемая методика позволяет определять концентрации иприта в интервале $1 \cdot 10^{-6}$ — $1 \cdot 10^{-5}$ мг/мл, предел допускаемых значений погрешности не выше $\pm 15\%$ при доверительной вероятности не менее 0,95.

В настоящее время методика проходит метрологическую аттестацию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Курочкин В.К. Тез. докл. Межд. симп. «Жизнь в атомном и химическом мире». Москва, ИБХФ РАН, 1999, с. 56.
2. Sass S., Steger R.G. J.Chromatogr., 1982, v. 238, p. 121.
3. Erickson R.L., Macnair R.N., Brown R.H., Hogan H.D. Anal.Chem., 1972, v. 44, p. 1040.
4. Casselman A.A., Gibson N.C.C., Bannard R.A.B. J.Chromatogr., 1973, v. 78, p. 317.
5. Albro P.W., Fishbein L. Ibid., 1970, v. 46, p. 202.
6. Machata G., Vycudilik W. Proc. of the First World Congress "New Compounds in Biological and Chemical Warfare", Ghent, May 21—23, 1984. Arch. Belg. Med.Soc., Hyg., Med. Leg., Suppl. Ist, 1984, p. 53.
7. Rohbaugh D.K., Yang Y.C., Ward J.R. J.Chromatogr., 1988, v. 447, p. 165.
8. D'Agostino P.A., Provost L.R. Ibid., 1988, v. 436, p. 399.
9. Vycudilic W. Forensic Sci Int., 1985, v. 28, p. 131.
10. Vycudilic W. Ibid., 1987, v. 35, p. 67.
11. Heyndricks A., Cordonnier J., de Bock A. Proc. of the First World Congress "New Compounds in Biological and Chemical Warfare", Ghent, May 21—23, 1984. Arch. Belg. Med. Soc., Hyg., Med. Leg., Suppl. Ist, 1984, p. 102.
12. Drasch G., Kretschmer E., Kauert G., van Meyer L. J.Forens. Sci., 1987, v. 32, p. 1788.
13. Fowler W.K., Dulfey C.H., Miller H.C. Anal.Chem., 1979, v. 51, p. 2333.
14. Black R.M., Clark R.J., Read R. W., Reid M.T.G. J.Chromatogr, 1994, v. 662, p. 301.
15. "On Site Sample Preparation Method for Soil, Water and Wipe Samples for the Qualitative Determination of CWA Related Compounds", US Army Chemical and Biological Defense Command, Treaty Assistance Directorate, APG, MD, USA, 1998.
16. Методика выполнения измерений концентрации β, β' -дихлордиэтилсульфида иприта в растворе хлористого метилена газохроматографическим методом. Москва, ВАХЗ, 1998 г.
17. Boshoff P.R., Hopkins B.J. J.Chromatogr. Sci., 1979, v. 17, p. 588.
18. Байерман К. Определение следовых количеств органических веществ. М.: Мир, 1987.