

на правах рукописи

Смоленков Александр Дмитриевич

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОМУ
ОПРЕДЕЛЕНИЮ ГИДРАЗИНОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ
В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

02.00.02 – Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора химических наук**

Москва 2014

Работа выполнена на кафедре аналитической химии химического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова

Научный консультант: член-корреспондент РАН, профессор
Олег Алексеевич Шпигун

Официальные оппоненты: доктор химических наук
Буряк Алексей Константинович
(Институт физической химии и электрохимии
имени А.Н. Фрумкина РАН, г. Москва)

доктор химических наук, профессор
Яшин Яков Иванович
(ООО «Интерлаб», г. Москва)

доктор химических наук
Курганов Александр Александрович
(Институт нефтехимического синтеза им.
А.В. Топчиева РАН), г. Москва)

Ведущая организация: Северный (Арктический) федеральный
университет имени М.В. Ломоносова

Защита состоится 23 апреля 2014 г. в 15 ч 00 мин в аудитории 446 на заседании диссертационного совета Д 501.001.88 по химическим наукам при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, МГУ имени М.В. Ломоносова, Химический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

С авторефератом можно ознакомиться на сайте ВАК России: <http://vak.ed.gov.ru>

Автореферат разослан _____ 2014 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук



Торочешникова И.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Гидразин и его алифатические производные широко используются в хозяйственной деятельности человека как ценные синтоны в химической промышленности и фармацевтике; восстановители в энергетике и металлургии, а также высокоэффективные топлива в ракетно-космической отрасли. Техногенное воздействие ракетно-космической деятельности (РКД) является одной из остро стоящих проблем на региональном и межгосударственном уровне, активно обсуждаемой в печати и научной литературе. Обширные территории (95000 кв.км) выделены в качестве районов падения отделяющихся частей ракет-носителей как в Российской Федерации, так и в Республике Казахстан. При этом гидразины относятся к высокотоксичным соединениям, что требует выполнения мероприятий по экологическому мониторингу и производственному контролю на космодромах и в районах падения, поскольку даже в рамках штатной эксплуатации ракетной техники остатки топлив сбрасываются в окружающую среду.

Адекватность оценки воздействия РКД на окружающую среду и обеспечения ее безопасности определяется используемыми методиками химического анализа. Необходимость их совершенствования вызвана современными требованиями по обеспечению высокого уровня селективности, не допускающего ложно-положительного обнаружения ракетных топлив, а также по повышению чувствительности из-за ужесточения санитарно-гигиенических нормативов. Низкая трудоемкость и экспрессность методик, доступность их широкому кругу лабораторий также должны быть учтены среди требований к методикам экологического сопровождения РКД из-за большого объема выполняемых аналитических работ при обследовании значительных по масштабам территорий.

Решение задачи селективного определения малых количеств гидразинов можно связать с дальнейшим развитием хроматографического метода благодаря раскрытию потенциала вариантов прямого определения гидразинов – ионной и ион-парной хроматографии, а также за счет разработки новых подходов в методе реакционной жидкостной хроматографии с доступными вариантами детектирования. В последнем случае повышение чувствительности должно обеспечиваться за счет улучшения аналитических свойств получаемых производных и разработки удобных способов предварительного концентрирования. Повышение экспрессности возможно за счет разработки способов одновременного определения нескольких целевых компонентов в пробе.

Существенной проблемой в области аналитической химии гидразинов является отсутствие каких-либо исследований, направленных на обеспечение правильности подготовки проб при определении 1,1-диметилгидразина (НДМГ) в почвах и растениях,

а также посвященных сравнительному анализу известных методик извлечения. Поэтому остаются актуальными задачи поиска условий количественного извлечения НДМГ из почв и растений для определения его валовой концентрации, а также поиска условий определения форм его существования в объектах.

Изучение поведения НДМГ при проливах позволяет оценивать его воздействие на окружающую среду с точки зрения его реальной токсичности. Принято негативное воздействие НДМГ связывать с его трансформацией в другие химические соединения. Недостатками проводимых исследований в этой области являются однобокое применение для идентификации продуктов трансформации газовой хромато-масс-спектрометрии, имеющей ограничения по летучести и термостабильности веществ, и установление структуры по библиотекам масс-спектров без дополнительных подтверждающих экспериментов с применением веществ-стандартов, а также оценка токсичности продуктов трансформации НДМГ только методами математического моделирования. При этом идентификация и оценка токсичности не могут считаться достоверными.

До выполнения данной работы исследования воздействия РКД на окружающую среду при проливах НДМГ были ориентированы на изучение изменения свойств экосистем. В то же время недостаточно внимания уделялось изучению поведения в окружающей среде самого экотоксиканта – НДМГ, что, несомненно, является необходимым для обеспечения полноты картины воздействия РКД, в частности, для объяснения высокой устойчивости НДМГ в почвах, когда, несмотря на его высокую реакционную способность, вещество обнаруживают на месте пролива не один десяток лет. В связи с этим усилия по изучению поведения НДМГ в почвах и оценке реальной степени опасности РКД представляются оправданными и необходимыми.

Отсюда со всей очевидностью вытекает актуальность диссертационной работы, посвященной развитию хроматографических методов изучения и определения таких важных аналитов, как алифатические гидразины и их производные, разработке чувствительных и селективных методик их определения и формированию новой системы представлений о трансформации НДМГ в объектах окружающей среды.

Цели работы: разработка новых вариантов определения гидразинов и продуктов их трансформации, в том числе и для усовершенствования методического обеспечения эколого-аналитического контроля ракетно-космической деятельности, с использованием различных методов высокоэффективной жидкостной хроматографии, а также достоверная идентификация продуктов трансформации НДМГ и изучение его поведения в почвах.

Для достижения поставленных целей необходимо было решить следующие задачи:

- применить методы ионной хроматографии (ИХ) и ион-парной хроматографии

(ИПХ) к новому классу аналитов – гидразинам; выявить закономерности удерживания гидразинов в ионной и ион-парной хроматографии, оценить возможности применения этих методов для определения гидразинов;

- найти наиболее перспективные дериватизирующие реагенты для определения гидразинов методом реакционной жидкостной хроматографии (ЖХ);
- выбрать условия определения гидразинов, а также НДМГ и продуктов его трансформации методами ионной, ион-парной и реакционной жидкостной хроматографии, в том числе сочетая их с предварительным концентрированием;
- достоверно идентифицировать продукты трансформации НДМГ на основе применения жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ХМС);
- исследовать поведение НДМГ в почвах, разработать методики извлечения различных форм НДМГ и продуктов трансформации из почв;
- разработать новые хроматографические методики определения НДМГ, его форм, а также продуктов трансформации для изучения поведения НДМГ в окружающей среде и для экологического сопровождения РКД;
- выполнить оценку токсичности значимых продуктов трансформации НДМГ методами биотестирования;
- изучить трансформацию НДМГ и предложить новую систему представлений о его поведении в почвах при проливах.

Работа выполнена в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы по ГК № 14.740.11.0365 «Разработка высокочувствительных методов определения содержания органических веществ в объектах окружающей среды, медицины и материаловедения», а также гранта РФФИ 08-03-13500-офи_ц «Экологическая химия компонентов ракетных топлив. Изучение процессов трансформации несимметричного диметилгидразина и создание методик определения основных продуктов его разложения».

Научная новизна. Установлены ряды селективности катионообменников различной природы по отношению к гидразинам, а также исследована способность катионообменников к разделению смесей однозарядных катионов: щелочных металлов, короткоцепочечных алифатических аминов и гидразинов. На основании полученных результатов рекомендованы к использованию для разделения гидразинов сульфокатионообменники на основе силикагеля.

Предложено использовать ионную и ион-парную хроматографию для определения гидразинов. Изучено хроматографическое поведение гидразинов, а также НДМГ и продуктов его трансформации, установлены закономерности разделения и основные факторы, определяющие удерживание гидразинов и селективность в ИХ и ИПХ. Оцене-

ны возможности предложенных подходов, основанных на применении ИХ и ИПХ, к прямому определению гидразинов и продуктов трансформации НДМГ при использовании амперометрического (АД) и масс-спектрометрического (МСД) детектирования.

Расширены возможности определения гидразинов методом реакционной ЖХ. Оптимизированы условия хроматографического определения НДМГ при использовании 4-хлор-5,7-динитробензофуразана (дБФЗ) в качестве дериватирующего реагента. Предложены новые перспективные реагенты для определения гидразинов методом реакционной ЖХ: 2,3-нафталиндиальдегид (НДА), 4-нитробензальдегид (4-НБА), коричный (КА) и п-диметиламинокоричный (*n*-ДМАКА) альдегиды, глиоксаль (ГО) и его производные. Найдены условия получения производных с гидразинами. Изучено хроматографическое поведение производных, выбраны оптимальные условия их определения методом обращенно-фазовой ВЭЖХ со спектрофотометрическим (СФД) и флуориметрическим (ФЛД) детектированием. Снижены пределы обнаружения гидразинов при их определении методом реакционной ВЭЖХ, что позволило проводить определение гидразина и НДМГ на уровне их ПДК_{рх} в водах водоемов рыбохозяйственного назначения (на уровне 10^{-7} г/л) без предварительного концентрирования.

Предложены комбинированные варианты сорбционно-жидкостно-хроматографического определения гидразинов, основанные на предварительном динамическом сорбционном off-line и проточном on-line концентрировании, что обеспечило достижение пределов обнаружения гидразинов на уровне 10^{-8} - 10^{-9} г/л.

Предложено использовать жидкостную хромато-масс-спектрометрию для идентификации и определения продуктов трансформации НДМГ, что позволило обнаружить ранее неизвестный продукт трансформации - диметилгидразид муравьиной кислоты. Это послужило важным шагом для понимания особенностей превращения НДМГ, объяснения его устойчивости, разработки представлений о существовании разных форм НДМГ и повышения правильности его определения в почвах.

Достоверно идентифицированы следующие продукты окислительной трансформации НДМГ: метилгидразин (МГ), триметилгидразин (ТМГ), диметилгидразид муравьиной кислоты (ДМГМК), 1,1-диметилгуанидин (ДМГу), диметиламин (ДМА), 1-метил-1,2,4-триазол (МТ), 1,5,5-триметилформаза (ТМФ), бис-диметилгидразон глиоксаля (*бис*-ДМГГ), диметилгидразоны ацетальдегида (ДМГА) и формальдегида (ДМГФ). По данным ЯМР после препаративного выделения предположено образование 1-метил-1,6-дигидро-1,2,4,5-тетразина. Установлены спектральные и хроматографические характеристики для идентификации перечисленных продуктов трансформации.

Обосновано ранжирование НДМГ в соответствии с вещественной формой его существования на основе различий в химической природе, подвижности и токсичности.

Предложен способ извлечения НДМГ из почв – дистилляция с паром из суспензии почвы в сильнощелочном растворе, – обеспечивающий количественное извлечение НДМГ по сравнению с ранее известными вариантами. Разработана методология анализа почв для определения разных форм НДМГ.

Изучена трансформация НДМГ при проливах и продемонстрировано превращение свободной формы НДМГ в связанные формы: водорастворимую подвижную связанную форму и форму, связанную с почвенным поглощающим комплексом.

Методы биотестирования применены для оценки токсичности НДМГ и продуктов его трансформации. На примере ДМГМК - самого устойчивого представителя связанных форм, – установлено, что последние менее токсичны, чем НДМГ. Показана необходимость дифференцирования форм существования НДМГ в окружающей среде при оценке загрязнения.

Практическая значимость. Предложенные подходы к прямому определению гидразинов позволяют успешно разрабатывать методики анализа и рациональные схемы аналитического контроля различных объектов с учетом особенностей используемых методов.

На примере разделения смесей гидразина и его алкилпроизводных С1-С4 установлено, что ИХ и ИПХ характеризуются альтернативной селективностью. ИПХ демонстрирует более высокую селективность при разделении гидразинов с длиной алкильного радикала С3-С4, ИХ более селективна при разделении метильных производных гидразина и подходит для разработки методик определения КРТ для экологического сопровождения РКД.

Предложены условия чувствительного и селективного определения гидразинов методом ИХ, заключающиеся в использовании для их разделения ковалентно-привитых сульфокатионообменников на основе силикагеля, для элюирования - аммиачно-ацетатных буферных растворов с рН 5,1-5,4. Показано, что сочетание ИХ с амперометрическим детектированием является перспективным для создания простых и чувствительных методик определения гидразинов на уровне их содержания 10^{-5} г/л в жидких матрицах (воде, крови, моче) и 10^{-6} % в твердых пробах (почве, растениях, мышечной ткани).

Разработаны подходы к определению НДМГ и одновременного с ним определения ионогенных и неионогенных продуктов трансформации при использовании следующих систем: 1) ионная хроматография с МСД; 2) ИПХ с МСД; 3) ИПХ с СФД и АД. Методики с МСД применены для исследования трансформации НДМГ. Способ одновременного определения НДМГ и продуктов его трансформации: гидразина, МГ, нитрозодиметиламина (НДМА) и тетраметил-2-тетразена (ТМТ) методом ИПХ до ужесточения гигиенических нормативов позволял проводить экспрессный анализ вод на

содержание основных нормируемых экотоксикантов РКД.

Проведена оценка чувствительности метода реакционной ЖХ при использовании предложенных в работе дериватирующих реагентов, выявлены наиболее перспективные. Показано, что определение гидразина с НДА и НДМГ с ГО методом реакционной ЖХ позволяет без предварительного концентрирования определять эти экотоксиканты в природных водах, а при сочетании реакционной ЖХ с предварительным off-line и on-line сорбционным концентрированием производных с ГО и дБФЗ соответственно возможно определение НДМГ на уровне норматива (ОДУ), установленного для питьевых вод.

Обеспечена достоверность результатов химического анализа при эколого-аналитических работах, благодаря предложенным в данной работе вариантам извлечения НДМГ из почв и растений, основанным на дистилляции НДМГ с паром непосредственно из объектов в сильнощелочной среде.

Установлены условия извлечения из почв и хромато-масс-спектрометрического определения продуктов трансформации ДМГМК, ДМА, МТ и ДМГУ.

Найдены условия хроматографического определения гидразинов и НДМГ, а также продуктов трансформации НДМГ. Разработаны 23 методики определения этих соединений в объектах окружающей среды и биоматериалах, из них 17 метрологически аттестованы и внедрены в практику аналитических лабораторий.

При изучении трансформации НДМГ при проливе на почву установлено, что основная доля НДМГ, удерживаемого почвой, претерпевает трансформацию в первые несколько суток. Показано, что за это время такие продукты трансформации, как МТ, ДМГМК, ДМГУ и ДМА, образуются в значительных количествах и их концентрацию необходимо контролировать в местах пролива НДМГ на почву. Показано уменьшение токсичности проливов НДМГ во времени благодаря его трансформации в связанные формы. Установлено, что устойчивость НДМГ в почвах повышается из-за его перехода в связанные формы.

Методами биотестирования получены экспериментальные данные по оценке токсичности НДМГ и продуктов его трансформации, отличные от ранее известных расчетных.

На защиту выносятся следующие положения:

- Подход к ионохроматографическому определению гидразинов, основанный на использовании ковалентно-привитых сульфокатионообменников при элюировании аммонийными буферными растворами с рН 5,0-5,4. А также данные по удерживанию гидразинов на катионообменниках малой емкости, применяемых в ИХ; результаты исследования влияния состава подвижной фазы на удерживание и селективность разделения гидразинов; рекомендации по выбору условий определения гидразинов

методами ИХ-АД и ИХ-МСД.

- Подход к определению гидразинов и продуктов трансформации методом ион-парной хроматографии. Результаты изучения влияния ряда факторов (состава подвижной фазы, природы и концентрации ион-парных реагентов, концентрации ацетонитрила) на удерживание гидразинов, нитрозодиметиламина (НДМА) и тетраметил-2-тетразена (ТМТ) в режиме ион-парной ВЭЖХ и их соответствие теоретическим представлениям; рекомендации и обоснование выбора условий для определения гидразинов, а также НДМГ и его продуктов трансформации.
- Результаты выбора условий дериватизации гидразинов с используемыми в работе реагентами, а также условий анализа методом обращенно-фазовой ВЭЖХ со спектрофотометрическим или флуориметрическим детектированием, разработанные подходы к определению гидразинов и достигнутые аналитические характеристики методик.
- Подходы к сочетанию динамического сорбционного концентрирования гидразинов в режимах off-line и on-line с последующим хроматографическим определением для снижения пределов обнаружения НДМГ.
- Результаты идентификации и подтверждения структуры продуктов трансформации НДМГ с использованием ВЭЖХ-МС и вспомогательных методов.
- Данные, доказывающие методами биотестирования меньшую острую токсичность ДМГМК, МТ, ДМА, ДМГу, НДМА, ТМТ по сравнению с НДМГ.
- Способы извлечения НДМГ (почва, растения, биосреды) и продуктов трансформации (почва).
- Результаты изучения трансформации НДМГ в почвах и новые представления о его поведении, основанные на образовании его связанных форм.
- Методология определения НДМГ в почвах на основе концепции вещественного анализа.
- Комплекс разработанных методик определения НДМГ и его продуктов трансформации для анализа объектов окружающей среды и биосред.

Апробация работы. Результаты исследований доложены на международных и российских конференциях: II Международный симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (2005, Краснодар); IMA 2005 - Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends and Applications (Iraklion, Crete, Greece, 2005); International Congress on Analytical Sciences ICAS-2006 (Moscow, 2006), VI Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды "Экоаналитика-2006" (Самара, 2006), X Международная конференция «Теоретические проблемы химии поверхности, адсорбции и хроматографии» (2006, Москва), 5th Aegean Analytical Chemistry days» (2006, Салоники, Греция); Всероссийский симпозиум «Хроматография в

химическом анализе и физико-химических исследованиях” (Москва, 2007), Научно-практической конференции «Экологическое сопровождение ракетно-космической деятельности» (2007, Москва); Euroanalysis XIV (Антверпен, Бельгия, 2007), Вторая Всероссийская конференция «Аналитика России 2007» (Краснодар, 2007), Всероссийский симпозиум “Хроматография и хромато-масс-спектрометрия” (Москва, 2008); 27th International Symposium on Chromatography (Мюнстер, Германия, 2008), 35th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry (Гданьск, Польша, 2008), научно-практическая конференция «Экологические и медико-социальные аспекты использования районов падения отделяющихся частей ракет» (Архангельск, 2008), VII Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2009» (Йошкар-Ола, 2009), III Всероссийская конференция "Аналитика России" с международным участием (Краснодар, 2009), 18th International Mass Spectrometry Conference (Бремен, Германия, 2009), 21st International Ion Chromatography Symposium (Дублин, Ирландия, 2009), 1-ая и 2-ая Всероссийская конференция «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (Краснодар, 2010, 2013), 36th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry (Рим, Италия, 2010), VIII Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды "Экоаналитика - 2011" (Архангельск, 2011), Научно-практическая конференция «Обеспечение экологической безопасности ракетно-космической деятельности» (Москва, 2011), III Всероссийский симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (Краснодар, 2011), 36th International Symposium on High-Performance Liquid Chromatography and Related Techniques (Будапешт, Венгрия, 2011), 29th International Symposium on Chromatography (Торунь, Польша, 2012).

Публикации. По материалам диссертации опубликованы 27 статей и более 40 тезисов докладов.

Вклад автора в работы, выполненные в соавторстве и включенные в диссертацию, состоял в формировании основных направлений, общей постановке проблем, в разработке подходов к исследованию, решении основных задач, активном участии на всех этапах теоретических и экспериментальных исследований, интерпретации, анализе и систематизации полученных результатов. Идея о ранжировании форм НДМГ в почвах и растениях, развитая в диссертационной работе, предложена в соавторстве с П.П. Кречетовым.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, 6 глав экспериментальной части, заключения, общих выводов и списка цитируемой литературы. Материал диссертации изложен на 362 страницах машинописного текста, содержит 85 рисунков и 106 таблиц; в списке цитируемой литературы 257 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обосновывается актуальность темы диссертации, формулируется цель и задачи исследования, раскрываются защищаемые положения, научная новизна и практическая значимость полученных результатов.

В Главе 1 (обзор литературы) приведены краткие сведения о практическом применении гидразинов, их физико-химические характеристики, необходимые для разработки методов их определения, а также гигиенические нормативы, установленные для гидразинов и продуктов трансформации НДМГ, определяющие требования по чувствительности к методикам анализа объектов окружающей среды на содержание этих экотоксикантов. Основное внимание уделено инструментальным методам определения гидразинов. Приведенный обзор литературы демонстрирует, что практически 90% работ связаны с разработкой методик определения гидразина, замещенным гидразином уделяется меньше внимания – суммарно определению МГ и НДМГ (даже с учетом определения даминозида) посвящены не более 20 работ, поэтому степень проработки задачи определения алкилгидразинов можно охарактеризовать как крайне низкую.

Среди методов определения гидразинов основную долю занимают спектрофотометрические и газохроматографические. Основной проблемой спектрофотометрических и флуориметрических методик является низкая селективность определения гидразинов, недостаточная для анализа объектов окружающей среды из-за сложной матрицы и сопутствующих продуктов трансформации НДМГ. Газохроматографические методики с применением доступных (не масс-спектрометрических) вариантов детектирования требуют трудоемкой и затратной по времени пробоподготовки, заключающейся в замене водной матрицы пробы органической, и очистке экстракта. Методы реакционной жидкостной хроматографии и прямого (без дериватизации) хроматографического анализа, к которым относятся ионная и ион-парная хроматография, перспективны с точки зрения упрощения пробоподготовки. Однако исследования в этой области практически не ведутся, и потенциал указанных методов, известный по анализу других классов соединений, в отношении гидразинов не раскрыт.

Охарактеризовано также состояние проблемы идентификации и определения продуктов трансформации НДМГ. Показано, что в последнее десятилетие благодаря доступности ГХ-МС и возможности использования библиотек масс-спектров существенно возросло количество публикаций, посвященных идентификации продуктов трансформации НДМГ. Предложены более 50 структур продуктов трансформации НДМГ. При этом отсутствие стадии окончательного подтверждения полученных результатов сравнением со стандартом предполагаемой структуры порождает проблему достоверности представляемых данных и формирует необоснованный негативный фон

вокруг РКД. Для количественных интерпретаций поведения продуктов трансформации применяют только полуколичественные способы, основанные на допущении равенства откликов масс-спектрометрического детектора ко всем веществам.

В **Главе 2** (Объекты исследования и методики эксперимента) описаны использованные в работе методики экспериментальных исследований, реагенты, оборудование, сорбенты и колонки.

В главах 3-7 обсуждены результаты работы. В **третьей главе** представлены результаты изучения закономерностей удерживания и поиска условий определения алкилгидразинов, а также НДМГ и продуктов его трансформации методами ионной и ион-парной хроматографии. В **четвертой главе** описан поиск новых дериватирующих реагентов для предварительной дериватизации гидразинов и разработка подходов к их определению методом жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим и флуориметрическим детектированием. В **пятой главе** приведены сведения о разработанных методиках определения гидразинов, их метрологических характеристиках, областях применения. **Шестая глава** содержит результаты идентификации продуктов трансформации НДМГ. В этой же главе рассмотрены возможности определения продуктов трансформации методами хромато-масс-спектрометрии, а также представлены результаты разработки подходов к определению продуктов трансформации в водах и почвах. Кроме того, приведены данные по оценке токсичности продуктов трансформации методами биотестирования. В **седьмой главе** сформированы и обоснованы современные представления о поведении НДМГ в почвах и предложена усовершенствованная методология анализа почв на содержание НДМГ.

Ионохроматографическое определение гидразинов

Избирательность хроматографической методики зависит от селективности колонки. При этом знание закономерностей удерживания позволяет выбирать условия, наиболее полно отвечающие задачам анализа, с меньшими временными затратами, и создавать более совершенные методики для анализа объектов со сложными матрицами. В отсутствие данных по удерживанию гидразинов на катионообменниках для разработки подхода к их ионохроматографическому определению изучили селективность катионообменников различной природы: поверхностно-привитых катионообменников с карбоксильными и фосфониевыми группами (колонки IonPac CS12A и CS17, Thermo Scientific, США), катионообменников на основе сульфированного сополимера полистирола и дивинилбензола малой емкости, силикагелей с ковалентно-привитыми сульфогруппами и динамически-модифицированных додецилбензолсульфоновой кислотой гидрофобизованных силикагелей. Изучили удерживание катионов щелочных металлов, аммония, гидроксилamina (ГА), короткоцепочечных аминов (С1-С3-

алкиламинов, диметил- и диэтил- аминов), гидразина, МГ, СДМГ и НДМГ при элюировании их метансульфоной кислотой, используя косвенное кондуктометрическое детектирование (универсальное детектирование). Установили, что гидразины элюируются с колонки после аммония и их удерживание сопоставимо с аминами. Отмечено влияние матрицы на удерживание гидразинов. По совокупности свойств: селективности, эффективности, воспроизводимости удерживания, для разделения гидразинов рекомендованы силикагели с ковалентно-привитыми сульфогруппами. Шкалы селективности для катионообменников этой группы приведены на рис. 1.

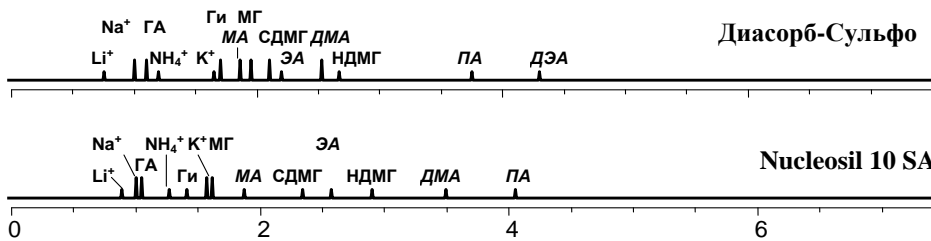


Рис. 1. Шкалы селективности ковалентно-привитых сорбентов. Элюент: 22 мМ раствор метансульфоной кислоты. Обозначения веществ приведены в табл.1.

Ацетатно-аммонийные буферные растворы более перспективны в качестве элюентов, поскольку совместимы с амперометрическим и масс-спектрометрическим детектированием. Кроме того, показана корреляция между коэффициентами селективности $\alpha(\text{NH}_4^+, \text{Na})$ и $\alpha(\text{НДМГ}, \text{Na})$ для 7 сорбентов на основе силикагеля, что позволяет предположить одинаковые вклады возможных механизмов взаимодействия с неподвижной фазой как ионов аммония, так и НДМГ. Как следствие, при элюировании буферными растворами на основе солей аммония должны подавляться нежелательные дополнительные взаимодействия при определении гидразинов благодаря конкуренции со стороны ионов NH_4^+ , находящихся в подвижной фазе в значительном избытке относительно компонентов пробы.

При элюировании ацетатно-аммонийным буферным раствором был использован альтернативный вариант представления селективности катионообменников – расчет констант ионного обмена (табл. 1). На катионообменнике Диасорб-Сульфо значения констант больше или они сопоставимы по величине с константами, полученными для сорбента Nucleosil SA. В то же время, для сорбента Диасорб-Сульфо характерен меньший интервал изменения констант ионного обмена, чем для ионообменника Nucleosil SA, что свидетельствует о большей селективности сорбента Nucleosil SA. Оба катионообменника характеризуются одинаковым порядком выхода веществ: $\text{Gi} < \text{MG} < \text{MA} < \text{ЭГ} \approx \text{СДМГ} < \text{ЭА} < \text{НДМГ} < \text{DMA} < \text{ПА} < \text{ТБГ} < \text{СДЭГ} < \text{БГ} < \text{БА} < \text{НДЭГ} < \text{ТМА} < \text{ДЭА}$. Ряд селективности гидразинов и аминов не противоречит известным закономерностям удерживания органических ионов: удерживание в рядах гомологов

возрастает с увеличением числа атомов углерода в цепи алкильных заместителей и числа заместителей в молекуле.

При смене элюирующего иона и переходе от элюирования ионом гидроксония к аммоний (замена метансульфонової кислоты на аммонийно-ацетатный буфер) селективность сорбента Nucleosil SA сохраняется. В то же время для катионообменника Диасорб-Сульфо происходит изменение порядка элюирования с МА<МГ<ДМА<НДМГ (рис.1) на МГ < МА < НДМГ< ДМА (табл.1), что подтверждает наши предположения о предпочтительном выборе для элюирования гидразинов N-содержащего противоиона для подавления неионообменных механизмов сорбции.

Таблица 1. Исправленные времена удерживания и рассчитанные концентрационные константы ионного обмена аминов и гидразинов. ПФ: 100 мМ аммонийно-ацетатный буферный раствор, рН 5,1. Скорость подачи элюента: 0,2 мл/мин.

| Исследуемые соединения (В) | Nucleosil 5 SA (2,1 x150 мм) | | Диасорб-130-Сульфо (2,0 x150 мм) | |
|----------------------------|---------------------------------|--------------------|-------------------------------------|--------------------|
| | t _r ', мин | K _{NH4/В} | t _r ', мин | K _{NH4/В} |
| Метиламин (МА) | 4,9 | 1,66 | 2,85 | 2,38 |
| Этиламин (ЭА) | 7,0 | 2,37 | 3,75 | 3,13 |
| Пропиламин (ПА) | 11,4 | 3,86 | 5,75 | 4,79 |
| Бутиламин (БА) | 21,1 | 7,15 | 8,85 | 7,38 |
| Диметиламин (ДМА) | 9,3 | 3,15 | 4,45 | 3,71 |
| Триметиламин (ТМА) | 22,8 | 7,73 | 9,35 | 7,79 |
| Диэтиламин (ДЭА) | 24,3 | 8,24 | 9,95 | 8,29 |
| Гидразин (Ги) | 3,5 | 1,19 | 2,25 | 1,88 |
| Метилгидразин (МГ) | 4,5 | 1,53 | 2,65 | 2,21 |
| Этилгидразин (ЭГ) | 6,5 | 2,20 | 3,35 | 2,79 |
| трет-Бутилгидразин (ТБГ) | 14,4 | 4,88 | 6,35 | 5,29 |
| Бутилгидразин (БГ) | 18,9 | 6,41 | 7,85 | 6,54 |
| 1,2-Диметилгидразин (СДМГ) | 6,7 | 2,27 | 3,35 | 2,79 |
| 1,1-Диметилгидразин (НДМГ) | 8,5 | 2,88 | 4,15 | 3,46 |
| 1,2-Диэтилгидразин (СДЭГ) | 14,8 | 5,02 | 7,45 | 5,21 |
| 1,1-Диэтилгидразин (НДЭГ) | 22 | 7,46 | 9,01 | 6,21 |

Сравнение удерживания гидразинов и соответствующих им аналогов аминов на обоих катионообменниках показало, что при элюировании NH₄⁺ гидразины удерживаются слабее, однако время удерживания алкилгидразинов уменьшается не настолько значительно, чтобы они могли опередить гомологичный моноалкиламин с меньшим на единицу количеством атомов углерода.

Рассчитанные значения констант ионного обмена K_{гидразин/амин} по формуле:

$$K_{\text{гидразин/амин}} = K_{\text{NH4/амин}} / K_{\text{NH4/гидразин}} \quad (1),$$

имеют значения больше 1 (табл. 2). Отметим, что для пар монозамещенный гидразин - моноалкиламин и дизамещенный несимметричный гидразин – диалкиламин значения констант ионного обмена на обеих колонках практически совпадают. По-видимому,

неравноценность атомов азота в молекуле несимметричных гидразинов приводит к взаимодействию с функциональной группой по более основному замещенному атому азота, а NH_2 -группа может рассматриваться как дополнительный заместитель, обеспечи-

Таблица 2. Константы ионного обмена гидразин/амин

| Гомологическая пара | $K_{\text{гидразин/амин}}$ | |
|---------------------|----------------------------|----------------|
| | Nucleosil SA | Диасорб-Сульфо |
| МГ/МА | 1,09 | 1,08 |
| ЭГ/ЭА | 1,08 | 1,12 |
| БГ/БА | 1,12 | 1,10 |
| НДМГ/ДМА | 1,09 | 1,07 |
| НДЭГ/ДЭА | 1,10 | 1,09 |
| СДМГ/ДМА | 1,39 | 1,33 |
| СДЭГ/ДЭА | 1,64 | 1,59 |

вающий некоторое снижение электронной плотности у вторичного атома азота по сравнению с молекулой амина. Таким образом, можно полагать, что селективность взаимодействия с функциональной группой аминов и гидразинов с одинаковыми заместителями в большей степени определяется наличием алкильных заместителей, в то время как

присутствие еще одного атома азота в молекуле гидразина приводит к лишь некоторому уменьшению времени удерживания, по-видимому, из-за снижения основности атома N1 и, как следствие, ослаблению взаимодействия с функциональной группой сорбента.

На рис. 2 представлены зависимости $\lg k'_x$, полученных на колонках Диасорб-Сульфо и Luna SCX, от $\lg k'_N$ гидразинов на колонке Nucleosil SA, подтверждающие сходство механизмов удерживания на всех изученных колонках, поскольку коэффициенты при x уравнения регрессии близки к 1. Помимо общности селективности всех силикагелей с сульфогруппами этот факт показывает, что влиять на селективность разделения гидразинов возможно только варьируя состав элюента.

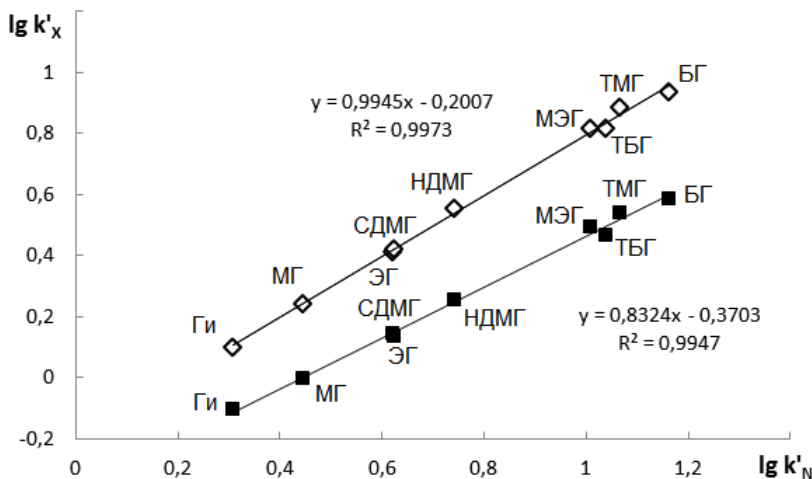


Рис. 2. Зависимости $\lg k'_x$ гидразинов, полученных на колонках Диасорб-Сульфо (—■—) и Luna SCX (—◇—), от $\lg k'_N$ гидразинов на колонке Nucleosil SA.

Влияние состава элюента изучено как с точки зрения достижения оптимального разделения смесей гидразинов, так и обеспечения максимальной чувствительности амперометрического детектора (АД). Продемонстрировано, что применение солей Na^+ и K^+ для элюирования вместо NH_4^+ приводит к снижению эффективности колонок.

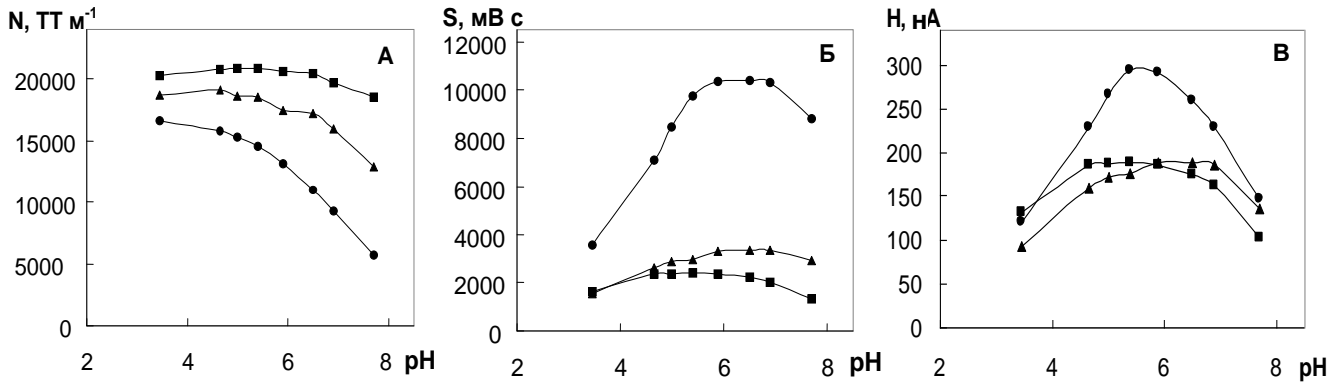


Рис. 3. Зависимости эффективности (А), площадей пиков (Б) и высот пиков (В) для гидразина (0,05 мг/л; ---■---), МГ (0,1 мг/л; ---▲---) и НДМГ (0,4 мг/л ; ---●---) от рН элюента. Элюент: 50 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$. Колонка: Nucleosil 10 SA (4x150 мм).

Использование аммонийно-фосфатных буферных растворов в сравнении с аммонийно-ацетатными не влияет на параметры удерживания и детектирования, но их недостатком является отсутствие буферной емкости в оптимальном для амперометрического детектирования диапазоне рН элюента 5,0-5,4.

Установлено, что рН элюента - важный параметр как для разделения гидразинов, так и для чувствительного их детектирования. С увеличением рН элюента возрастает удерживание и селективность, но ухудшается эффективность колонки (рис. 3А). При этом зависимость площади пика НДМГ от рН выходит на плато при рН 6-7 (рис. 3Б). Однако максимум на зависимости высоты пика от рН (рис. 3В) сдвинут в более кислую область рН из-за снижения эффективности колонки, все более значительно проявляющегося по мере перехода от рН 5 к 7.

Согласно теории ионной хроматографии зависимость фактора удерживания (k'_X) аналита X от концентрации буфера ($C_{\text{буф}}$) в подвижной фазе описывается уравнением:

$$\lg k'_X = -a \lg C_{\text{буф}} + b. \quad (2)$$

Коэффициент a представляет собой отношение зарядов аналита и элюирующего иона ($z_X/z_{\text{буф}}$). Изучение влияния концентрации NH_4^+ на удерживание гидразинов при элюировании аммонийно-ацетатными буферными растворами без добавки органического растворителя на колонках Luna SCX и Nucleosil 10 SA показало, что наблюдается линейная зависимость между $\lg k'$ и $\lg C_{\text{буф}}$ с практически одинаковыми коэффициентами a , значения которых близки к 0,9. Такое поведение показывает, что изменение концентрации элюирующего иона можно использовать для выбора оптимальных значений факторов удерживания, т.е. регулировать удерживание гидразинов с целью оптимизации времени анализа. Однако изменение концентрации не влияет на селективность разделения гидразинов.

Влияние на удерживание гидразинов добавки ацетонитрила изучено в диапазоне изменения его объемной доли от 2 до 50 % для катионообменников Luna SCX и

Nucleosil SA. Для полярных и относительно слабоудерживаемых гидразинов (Ги, МГ, гидроксиэтилгидразин (ГЭГ)) изменение факторов удерживания в присутствии ацетонитрила в элюенте незначительно и не превышает $\pm 0,3$ единиц (10-15% в ту или другую сторону). Так, фактор удерживания Ги возрастает во всем изученном диапазоне.

При добавке ацетонитрила в элюент удерживание других гидразинов уменьшается, причем эффект снижения удерживания для каждого из алкилгидразинов тем более выражен, чем сильнее он удерживается в отсутствие ацетонитрила. Так, сравнительно небольшая добавка 2 об.% ацетонитрила вызывает снижение факторов удерживания группы С2-С4 алкилгидразинов на катионообменнике Luna SCX: в интервале от 12 % для СДМГ до 55% для БГ - наиболее слабо- и сильно- удерживаемых из группы соответственно. Более значимое уменьшение удерживания приводит к тому, что гидразины с 4-мя атомами углерода (СДЭГ, ТБГ и БГ) элюируются в этих условиях раньше гидразинов с 3-мя атомами углерода (ТМГ и МЭГ). В то же время при содержании 50 об.% ацетонитрила на катионообменнике Luna SCX гидразины с 4-мя атомами углерода элюируются даже раньше СДМГ и НДМГ.

В случае катионообменника Nucleosil SA уменьшение удерживания гидразинов при добавке 2 об.% ацетонитрила менее выражено и составляет примерно 65% от потери в удерживании на сорбенте Luna SCX, обращение селективности удерживания гидразинов с 3-мя и 4-мя атомами углерода происходит в присутствии 50 об.% ацетонитрила.

Полученные результаты наглядно показывают, что при введении добавки органического растворителя в подвижную фазу не только уменьшается удерживание гидразинов, но и изменяется селективность их разделения. Выявление этого фактора не только позволяет оптимизировать разделение гидразинов и продолжительность анализа, но и имеет большое значение при их идентификации. Поскольку для идентификации необходимо совпадение параметров удерживания в двух хроматографических системах с разной селективностью, то использование двух элюентов с разным содержанием ацетонитрила позволяет достоверно идентифицировать гидразины на одной колонке с сульфосиликагелем, не прибегая к разделению с использованием других хроматографических методов.

Продемонстрировано, что из-за уменьшения селективности разделения гидразинов использовать элюенты с высоким содержанием ацетонитрила не имеет смысла. Установлено, что для предсказания удерживания в сложных смесях гидразинов и оптимизации селективности разделения при варьировании объемной доли ацетонитрила в диапазоне от 2 до 20% зависимость удерживания на сорбенте Nucleosil SA с приемлемой корреляцией $r^2 > 0,99$ описывается только уравнением:

$$\lg k' = a \cdot \lg C_{\text{MeCN}} + b, \quad (3)$$

где C_{MeCN} - молярная концентрация ацетонитрила.

Уравнение (3) дает несколько худшую корреляцию для катионообменника Luna SCX в случае метилгидразинов ($r^2 \approx 0,97$), однако уравнение:

$$\lg k' = a_2 \cdot \varphi^2_{\text{MeCN}} + a_1 \cdot \varphi_{\text{MeCN}} + a_0, \quad (4)$$

позволяет описать изменение фактора удерживания от объемной доли ацетонитрила (φ_{MeCN}) в подвижной фазе с корреляцией $r^2 > 0,99$ для всех изученных алкилгидразинов.

ИХ имеет ограничения по разделению некоторых пар соединений. Например, не удастся разделить на сульфосиликагелях пары СДМГ/ЭГ, ТМГ/МЭГ, причем пики ТМГ и МЭГ выходят между пиками бутилгидразинов и не разделяются с ними. Также проблематично разделение всех трех рассмотренных гидразинов с четырьмя атомами углерода (БГ, ТБГ, СДЭГ): возможно одновременное разделение только двух из трех. Применение ацетонитрила помогает регулировать селективность, как показано на рис. 4Б, позволяя добиться разделения ТБГ и ТМГ за счет того, что ТБГ более чувствителен к добавке ацетонитрила, чем ТМГ. При этом время удерживания ТБГ уменьшается сильнее, чем у ТМГ, в присутствии 1,4% ацетонитрила, что в конечном итоге позволяет разделить эти 2 гидразина на колонке Luna SCX. Однако все опробованные варианты при разделении алкилгидразинов с учетом варьирования природы сульфосиликагелей и состава подвижной фазы показывают, что из 12-ти исследуемых гидразинов удастся разделить не более 7. Тем не менее, ИХ демонстрирует прекрасную селективность при разделении гидразинов, представляющих интерес в области экологического сопровождения РКД: НДМГ, МГ, Ги, ТМГ и ТМТ (рис. 4А).

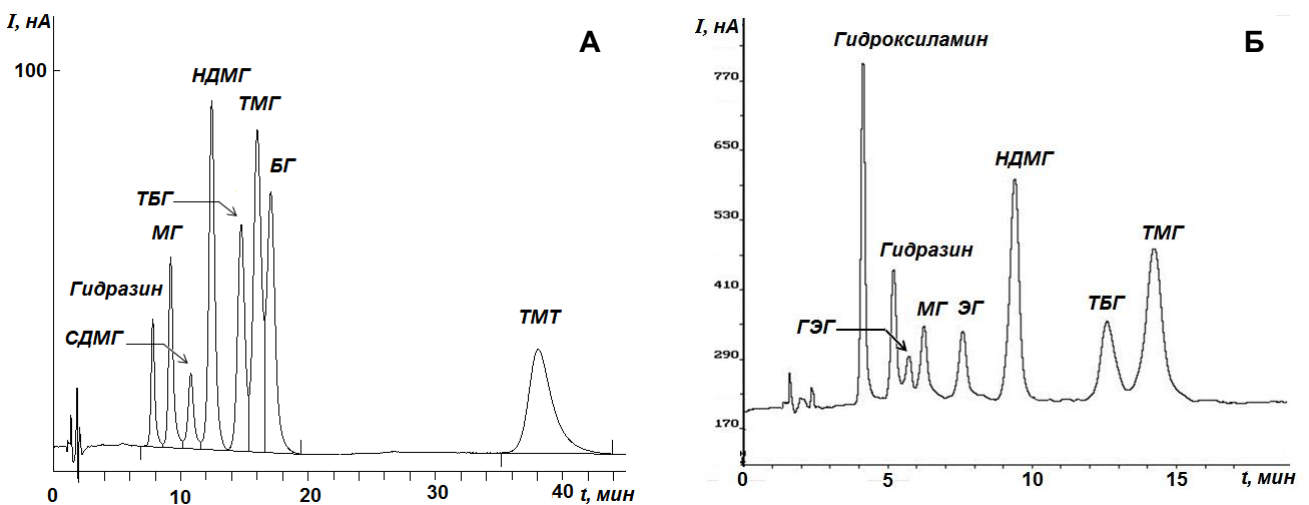


Рис. 4. Хроматограммы смесей гидразинов. Амперометрическое детектирование, $E = +1,2$ В. А. Колонка: Nucleosil SA (4,0×100 мм, 10 мкм). ПФ: 30 мМ аммонийно-ацетатного буферного раствора, pH 5,3, 10 % MeCN. $F = 1$ мл/мин. Б. Колонка: Luna SCX (4,0×250 мм, 10 мкм). ПФ: 70 мМ аммонийно-ацетатный буферный раствор, pH 5,1, 1,4 % MeCN. $F = 1,5$ мл/мин.

Высокая селективность предложенного подхода к определению гидразинов методом ИХ-АД обеспечивается двумя факторами: выбором подходящих условий разделения и применением селективного амперометрического детектирования. Ранее показано, что алифатические амины имеют примерно такие же константы ионного обмена, что и их структурные аналоги гидразины, и, как следствие, близкие времена удерживания. Установлено, что в условиях определения гидразинов 10 мМ раствор метиламина не дает отклик на амперометрическом детекторе и не мешает определению МГ, а пик 10 мМ диметиламина сопоставим по высоте с пиком НДМГ при его концентрации 0,1 мг/л (1,7 мкМ) в пробе, т.е. отклик АД к ДМА как минимум в 5000 раз слабее, чем к НДМГ.

Важным аспектом обеспечения чувствительности амперометрического детектирования является рН подвижной фазы. Протонирование гидразинов осложняет их окисление. Показано, что с учетом двух противоположно действующих факторов: падения чувствительности амперометрического детектирования при снижении рН и ухудшения эффективности колонки при увеличении рН, оптимальным диапазоном детектирования по соотношению сигнал/шум является от 5,0-5,4 ед. рН. Для повышения чувствительности определения гидразинов целесообразно поднимать потенциал АД, однако он ограничен значением потенциала детектирования, при котором начинается окисление компонентов элюента. В оптимальных условиях определения гидразинов на сульфосиликагелях при элюировании аммонийно-ацетатным буфером с рН 5,4, пределы обнаружения при потенциале +1,2 В и объеме вводимой пробы 250 мкл составляют 0,2, 0,5 и 1 мкг/л для гидразина, МГ и НДМГ соответственно, что позволяет определять гидразин и НДМГ на уровне ПДК питьевых вод (0,01 и 0,02 мг/л соответственно). В целом, при использовании предложенного подхода возможно определение до 7 короткоцепочечных алкилгидразинов с пределами обнаружения 10^{-7} - 10^{-6} г/л (10^{-11} - 10^{-10} г в вводимой пробе) в жидких матрицах.

В результате проведенных исследований также предложен подход определения НДМГ методом ИХ-АД в сочетании с сорбционным динамическим on-line концентрированием. При концентрировании 10 мл пробы на колонке с катионообменником Nucleosil 10 SA (4x50 мм) пределы обнаружения Ги, МГ и НДМГ в растворе удалось снизить до 0,003, 0,06 и 0,1 мкг/л соответственно, а при концентрировании из 100 мл пробы был достигнут предел обнаружения НДМГ 0,02 мкг/л. Для устранения мешающего влияния катионов на сорбцию гидразинов предложено применять отгонку НДМГ с паром в 10 мМ раствор CH_3COOH .

Определение гидразинов и продуктов трансформации методом ион-парной хроматографии (ИПХ)

ИПХ позволяет определять одновременно с ионогенными соединениями незаряженные вещества, не прибегая к дериватизации. Это имеет решающее значение при разработке подходов к одновременному определению веществ разных классов, поскольку невозможно подобрать единый дериватизирующий агент для всех компонентов смеси. Такие многокомпонентные смеси, где перспективно применение ИПХ, образуются при разложении НДМГ. Поскольку метод ИПХ не применялся для разделения гидразинов, установлены закономерности и особенности хроматографического поведения гидразинов, НДМА и ТМТ на гидрофобизированных силикагелях в режиме ИПХ (табл. 3). Продемонстрировано на примере сорбентов Диасфер 110, что увеличение гидрофобности неподвижных фаз в ряду $C_4 < C_8 < C_{16}$ приводит к увеличению удерживания всех соединений и разрешения хроматографических пиков. Выявлено влияние структуры ион-парного реагента (длина радикала и природа функциональной группы) на примере алкилсульфатов и алкилсульфонатов на разделение смеси Ги, МГ, НДМГ, НДМА и ТМТ. Установлен вид зависимостей удерживания для гидразинов и продуктов трансформации от состава подвижной фазы в ИПХ (табл. 3).

Таблица 3. Закономерности, установленные для удерживания гидразинов и НДМА в ион-парной хроматографии

| Параметр оптимизации селективности | Гидразины | | НДМА | |
|--|--|----------------------------|--|----------------------------|
| | Вид зависимости | Характер зависимости | Вид зависимости | Характер зависимости |
| Длина углеводородной цепи ион-парного реагента | $\lg k' = a + b \cdot n_c$ | Линейная, возрастание | $\lg k' = a - b \cdot n_c$ | Линейная, убывание |
| Концентрация ион-парного реагента | $k' = \frac{a + b \cdot c_{\text{ипр}}}{1 + d \cdot c_{\text{ипр}}}$ | Криволинейная, возрастание | $1/k' = a \cdot c_{\text{ипр}} + b$ | Гиперболическая, убывание |
| Содержание органического модификатора | $\lg k' = a - b \cdot \varphi$ | Линейная, убывание | $\lg k' = a - b \cdot \lg \varphi$ | Линейная, убывание |
| Концентрация буферного раствора | $\lg k' = a \cdot \lg c_{\text{буф}} + b$ | Линейная, убывание | $k' = \frac{\alpha + \beta \cdot c_{\text{буф}}}{1 + \gamma \cdot c_{\text{буф}}}$ | Криволинейная, убывание |
| Величина pH буферного раствора | $\lg k'$ от pH | Криволинейная, возрастание | $\lg k'$ от pH | Криволинейная, возрастание |

Полученные результаты применены для разработки подхода к одновременному определению гидразинов и решения задачи определения НДМГ и продуктов его трансформации при совместном присутствии. Предложены условия для определения гидразинов методом ИПХ (рис. 5). Перспектива применения ИПХ, как можно видеть, связана с тем, что она обеспечивает альтернативную и лучшую для разделения смесей,

содержащих С3-С4 алкилгидразины, селективность, позволяя в итоге разделить большее число гидразинов по сравнению с ИХ. Удерживание гидразинов возрастает с увеличением числа атомов углерода. Удерживание изомеров также увеличивается с возрастанием гидрофобности. Установлено, что чувствительность определения гидразинов в варианте применения ИПХ с использованием амперометрического детектора такая же, как и в случае ИХ.

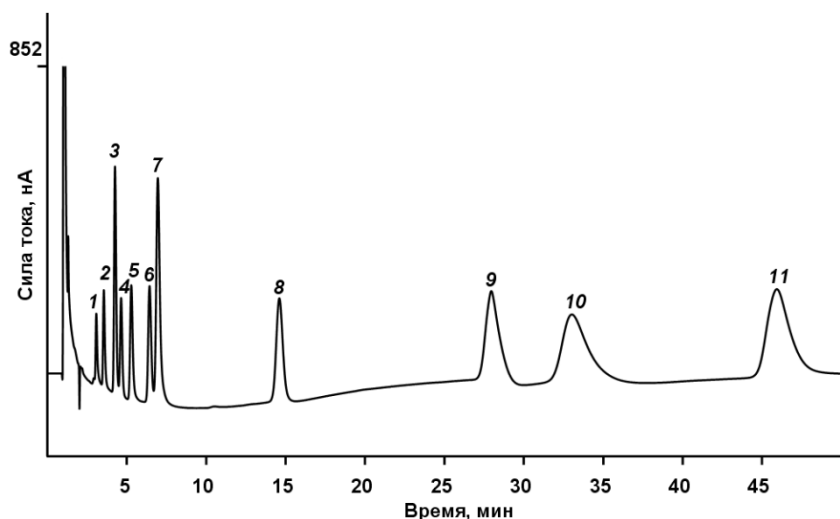


Рис. 5. Хроматограмма смеси алкилгидразинов. Колонка: Диасфер 110-С₁₆ (4,0×150 мм, 5 мкм). ПФ: 75 мМ аммонийно-ацетатный буферный раствор, рН 3,9, 1 мМ октилсульфоната натрия, 1 % MeCN. F = 1 мл/мин. Детектирование амперометрическое, E = +1,2 В. Гидразин (1), МГ (2), НДМГ (3), СДМГ (4), ЭГ (5), МЭГ (6), ТМГ (7), СДЭГ (8), ТБГ (9), ТМТ (10) и БГ (11).

Для определения НДМГ, Ги, МГ, НДМА и ТМТ предложена хроматографическая система с двумя последовательно установленными детекторами: спектрофотометрическим (СФД) и амперометрическим (рис. 6). Пределы обнаружения АД (S/N=3) для гидразина, МГ, НДМГ и ТМТ характеризуются низкими значениями - 0,3, 0,7, 0,8 и 1,2 мкг/л соответственно, при объеме вводимой пробы 100 мкл. Методику на основе разработанного подхода можно применять для определения вышеперечисленных веществ в водах, в которых ПДК гидразина, НДМГ и ТМТ составляют 10, 20 и 100 мкг/л. Спектрофотометрическое детектирование менее чувствительно, для одновременного определения НДМА от ПДК 10 мкг/л необходимо увеличивать объемы вводимой пробы до 250 - 500 мкл.

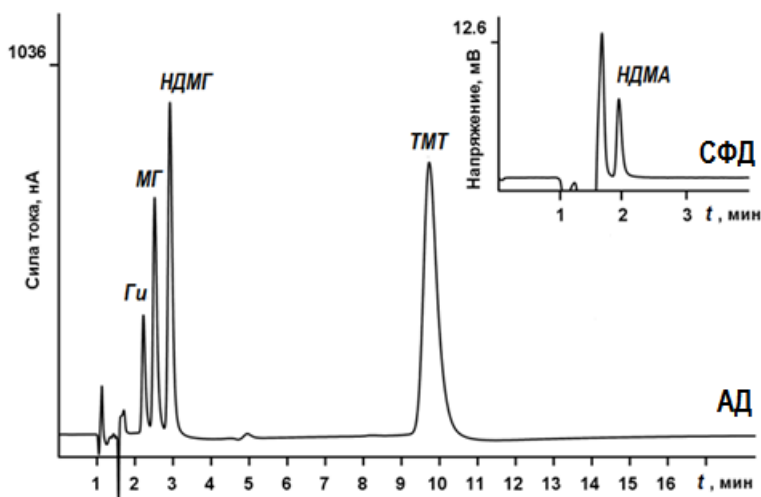
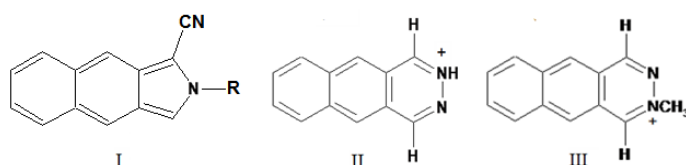


Рис. 6. Хроматограммы одновременного определения НДМГ и ряда его продуктов трансформации методом ИПХ. Колонка: Synergi Hydro RP (4,0×150 мм, 10 мкм). ПФ: 200 мМ аммонийно-ацетатный буферный раствор, рН 4,3, 5 мМ октилсульфата натрия, 8,5 % MeCN. Детектирование амперометрическое (E=+1,2 В) или спектрофотометрическое (для НДМА, λ = 240 нм).

Реакционная жидкостная хроматография гидразинов

Целью данного этапа работы была разработка подходов к определению гидразинов на уровне 10^{-7} г/л без концентрирования и 10^{-8} г/л с сорбционным концентрированием. Алгоритм разработки подхода к высокочувствительному определению гидразинов включал выбор условий дериватизации, сорбции и определения с учетом взаимного сочетания всех этапов.

Определение гидразина, метилгидразина и 1,1-диметилгидразина с нафталин-2-диальдегидом (НДА). Большинство реагентов на аминогруппу неселективно к гидразинам и взаимодействует с большим количеством аминосоединений в составе матрицы пробы. В отличие от аминов и аминокислот, которые образуют замещенные бензоизоиндолы (I) только в присутствии нуклеофилов, таких как цианид-ион, гидразин и МГ взаимодействуют с НДА с образованием 2,3-диазоантраценов (II) и (III) соответственно:



Реакция экспрессна и завершается при рН 8-9 в течение нескольких минут. Исследование показало, что получаемые производные устойчивы в хроматографических системах; предложен подход к определению гидразинов методом ОФ ВЭЖХ с флуориметрическим и спектрофотометрическим детектированием с предварительной дериватизацией НДА. Установлено, что флуоресценцией обладают производные НДА с гидразином и моноалкилгидразинами, флуоресценция 1,1-дизамещенных гидразинов отсутствует. Предложены условия для экспрессного определения гидразина, МГ и НДМГ (рис. 7). Найденные условия детектирования и метрологические характеристики представлены в таблице 4.

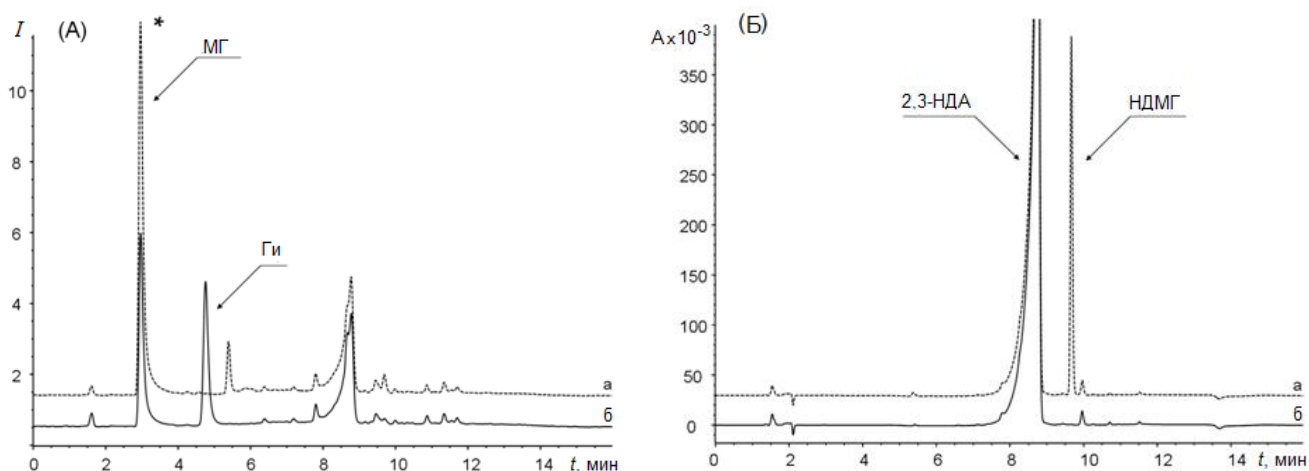


Рис. 7. Хроматограммы на СФД (А) и ФЛД (Б) смеси гидразина (0,5 мкг/л) и МГ (0,5 мкг/л) (а) и НДМГ (1 мкг/л) (б). Колонка: Zorbax Eclipse AAA (4,6×150 мм). Градиентное элюирование 0,1% H_3PO_4 (А) и MeCN (Б): 0 мин – 15% Б, 2 мин – 15% Б, 9 мин - 90% Б; 11 мин - 90% Б; 12 мин - 15% Б; 20 мин, 15% Б. На рис.7А знаком (*) обозначен пик МГ, присутствующий как примесь в НДМГ.

Таблица 4. Метрологические характеристики хроматографического определения гидразинов с НДА (n = 3, P = 0,95). Вид градуировочной зависимости $y = ax$. Объем пробы: 100 мкл

| Производное | Условия детектирования | Диапазон линейности, мкг/л | r^2 | C_{min} мкг/л | s_r |
|-------------|--|----------------------------|--------|-----------------|-------|
| Ги-НДА | ФЛД, $\lambda_{возб} = 273$ нм $\lambda_{эм} = 500$ нм | 0,1 – 50 | 0,9997 | 0,05 | 0,04 |
| МГ-НДА | | 0,1 – 50 | 0,9998 | 0,05 | 0,05 |
| НДМГ-НДА | СФД, $\lambda_{погл} = 290$ нм | 2,5 – 5000 | 0,9998 | 1,0 | 0,05 |

Стоит отметить, что НДА позволяет с высокой чувствительностью определять гидразин, МГ и НДМГ при одновременном присутствии в анализируемом растворе только с одной стадией подготовки пробы - дериватизацией. При определении НДМГ с НДА пределы обнаружения сопоставимы с методом ИХ-АД. Пределы обнаружения Ги и МГ предложенным методом настолько низкие, что ему нет аналогов, обеспечивающих определение этих экотоксикантов на столь же низком уровне без проведения дополнительной стадии концентрирования.

Предложенный подход позволяет определять гидразин просто и экспрессно (продолжительность дериватизации и проведения анализа - 1 и 15 мин соответственно) на уровне 10^{-7} г/л, решая задачу определения гидразина в природных водах на уровне ПДК_{рх} (0,3 мкг/л) и ниже. Разработанная методика метрологически аттестована и применяется для контроля содержания гидразина в воде озера Имандра, принимающего очищенные сточные воды Кольской АЭС.

Определение 1,1-диметилгидразина с 4-нитробензальдегидом (4-НБА) и глиоксалем. Для разработки подхода, позволяющего определять НДМГ на уровне $10^{-8}\%$ методом реакционной жидкостной хроматографии в качестве группы перспективных реагентов были рассмотрены ароматические альдегиды, в частности, 4-НБА, коричный и 4-диметиламинокоричный альдегиды, а также глиоксаль и его производные. Коричные альдегиды при образовании гидразонов образуют цепочку сопряженных связей, в молекуле диметилгидразона 4-нитробензальдегида (ДМГНБА) в ароматическом кольце нитрогруппа (электроноакцепторный заместитель) находится в пара-положении к азометиновой группе гидразона (электронодонорный заместитель). Эти факторы приводят к высоким молярным коэффициентам поглощения соответствующих гидразонов, что должно благоприятным образом сказываться на чувствительности определения. Однако коричные альдегиды оказались неудобными реагентами. Из-за их плохой растворимости в воде необходимо было вводить в реакционную смесь 30-50% органического растворителя, что приводило к разбавлению пробы. Взаимодействие требовало 1000-кратного избытка реагента, при этом скорость образования производного была удовлетворительной только при нагревании до

температур 90-100°C, что приводило не только к дериватизации, но и разложению реагента, вызывая появление многочисленных пиков, затрудняющих работу с пиком целевого компонента. Кроме того, пределы обнаружения как СФД, так и ФЛД оказались выше, чем при использовании ИХ-АД.

Для определения НДМГ дериватизацией с 4-НБА предложено использовать метод ОФ ВЭЖХ (рис. 8). Предел обнаружения ($S/N = 3$) СФД ($\lambda = 390$ нм) составил 0,5 мкг/л при объеме вводимой пробы 0,1 мл, диапазон линейности градуировочной зависимости достаточно широк: 1-10000 мкг/л. Относительное стандартное отклонение при концентрации 1,0 мкг/л - 14% ($n = 3$).

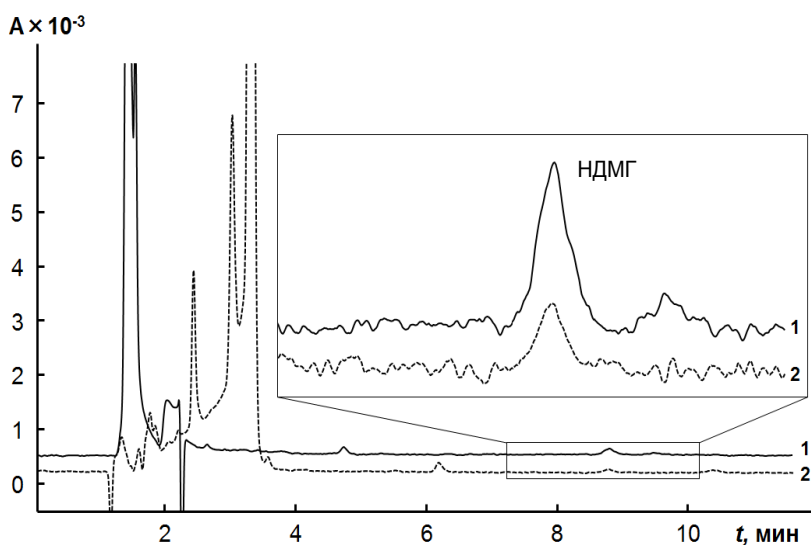


Рис. 8. Наложение хроматограмм природной воды с добавкой 0,5 мкг/л НДМГ после дериватизации: 1. Глиоксаль. Колонка Zorbax SB-C18 (4,6×150 мм). ПФ: 95% 20 мМ $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 5% об. MeCN (pH 3,5). $\lambda = 305$ нм и 2. 4-НБА (концентрация реагента 0,03% масс., дериватизация при 75 °С в течение 20 мин. Среда: 125 мМ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (pH 5,4). Колонка Eclipse XDB-C18 (4,6×150 мм). ПФ: 50 мМ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (pH 5,4), 50% об. MeCN $\lambda = 390$ нм. Объем пробы 100 мкл.

Дальнейшее повышение чувствительности определения N- и N,N-замещенных алкилгидразинов, и НДМГ в частности, методом ВЭЖХ-УФ было достигнуто при применении новых дериватирующих реагентов для определения гидразинов - α -дикарбонильных соединений ряда глиокселей. Высокие значения молярных коэффициентов поглощения (табл. 5) образующихся гидразонов обусловлены реализацией эффективных π - π -р систем сопряженных связей в их структуре за счет наличия неподеленной пары электронов алкиламиногруппы и двойных связей $\text{N}=\text{C}$ и $\text{C}=\text{O}$, что обеспечивает также высокую стабильность этих молекул по сравнению с молекулами алифатических (например, диметилгидразонов формальдегида и ацетальдегида) и даже ароматических альдегидов (например, диметилгидразона 4-нитробензальдегида (ДМГНБА)), особенно в кислой среде.

В ходе работы найдены условия получения производных гидразинов с глиоксальем (ГО), метилглиоксальем и глиоксиловой кислотой, а также хроматографические условия для определения МГ, ГЭГ и НДМГ. Наиболее высокая чувствительность хроматографического определения получена при использовании ГО (табл. 6, рис. 9).

Таблица 5. Значения длин волн максимумов и молярных коэффициентов поглощения продуктов реакции гидразинов с глиоксалем и его производными и некоторыми другими карбонильными соединениями (n=3, P=0,95)

| Исходный гидразин | λ_{\max} , нм | ϵ , л \times моль $^{-1}\times$ см $^{-1}$ | lg ϵ |
|---|-----------------------|---|---------------|
| Производные с глиоксалем | | | |
| Гидразин (Ги) | 285 | 18200 \pm 100 | 4,26 |
| Метилгидразин (МГ) | 291 | 18900 \pm 100 | 4,28 |
| 2-Гидроксиэтилгидразин (ГЭГ) | 295 | 16100 \pm 100 | 4,21 |
| Этилгидразин (ЭГ) | 294 | 19800 \pm 100 | 4,30 |
| 1,1-Диметилгидразин (НДМГ) | 305 | 26400 \pm 100 | 4,42 |
| 1,1-Диметилгидразон глиоксала (ДМГГ, Sigma-Aldrich)* | 305 | 26400 \pm 100 | 4,42 |
| бис-1,1-диметилгидразон глиоксала | 310 | н/д** | н/д** |
| 1-Метил-1-этилгидразин (МЭГ) | 305,5 | 25800 \pm 100 | 4,41 |
| Бутилгидразин (БГ) | 296 | 18700 \pm 100 | 4,27 |
| трет-Бутилгидразин (ТБГ) | 307 | 23600 \pm 100 | 4,37 |
| Производные с глиоксиловой кислотой | | | |
| МГ | 275 | 15700 \pm 100 | 4,20 |
| ГЭГ | 279 | 10900 \pm 100 | 4,04 |
| НДМГ | 289 | 19100 \pm 100 | 4,28 |
| Производные с метилглиоксалем | | | |
| НДМГ | 306 | 21000 \pm 100 | 4,32 |
| Производные с 4-нитробензальдегидом | | | |
| 1,1-Диметилгидразон 4-нитробензальдегида (ДМГНБА, Sigma-Aldrich)* | 390 | 15700 \pm 100 | 4,20 |

* – готовое, коммерчески доступное производное; ** – спектры поглощения были получены только с использованием детектора на диодной матрице, точный расчет ϵ невозможен

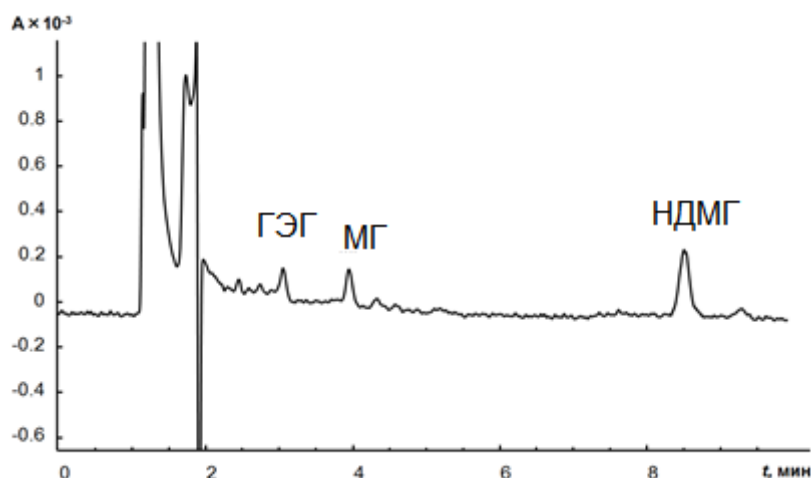


Рис. 9. Хроматограмма смеси ГЭГ, МГ и НДМГ с концентрациями 0,5 мкг/л после дериватизации ГО (конечная концентрация реагента в растворе 0,4 % масс., дериватизация при 25 °С в течение 20 мин; среда: 20 мМ NaH₂PO₄, pH 3,5). Колонка Zorbax SB-C18 (4,6 \times 150 мм, 5 мкм). ПФ: 95% 20 мМ NaH₂PO₄ (pH 3,5), 5 % MeCN. F = 1 мл/мин. λ = 305 нм. Объем пробы 100 мкл.

Таблица 6. Характеристики хроматографического определения гидразинов с предколоночной дериватизацией альдегидами ($n = 3, P = 0,95$)

| Реагент | Аналит | λ , нм | c_{min} , мкг/л ($S/N = 3$) | Диапазон линейности, мг/л | r^2 | s_r |
|----------------------|--------|----------------|------------------------------------|------------------------------|-------|-------|
| ГО | ГЭГ | 290 | 0,5 | 0,0010–10 | 0,999 | 0,17 |
| | МГ | 290 | 0,4 | 0,0010–10 | 0,999 | 0,15 |
| | НДМГ | 305 | 0,25 | 0,0005–10 | 0,999 | 0,10 |
| Глиоксильная кислота | НДМГ | 290 | 0,4 | 0,0010–10 | 0,999 | 0,12 |
| 4-НБА | НДМГ | 390 | 0,5 | 0,0010–10 | 0,999 | 0,14 |

В целом дериватизация с ГО выявила ряд преимуществ по сравнению с более распространенным применением замещенных бензальдегидов, и в частности 4-НБА, как одного из наилучших реагентов среди ароматических альдегидов, применяемых для определения НДМГ:

1. больший молярный коэффициент поглощения ДМГГ, чем у ДМГНБА, и лучший выход реакции образования производного, что позволяет увеличить чувствительность определения вдвое и добиться возможности определения НДМГ на уровне 0,5 мкг/л (рис. 8) в природных водах; 2. простая пробоподготовка, без операций концентрирования и очистки производного; 3. дериватизация при комнатной температуре, препятствующая протеканию побочных реакций; 4. Избирательность к гидразинам благодаря отсутствию взаимодействия с аминами и анилином в условиях дериватизации гидразинов; 5. меньшее мешающее влияние реагента в ходе хроматографического анализа: глиоксаль практически не удерживается на колонке в отличие от ароматических альдегидов, которые более гидрофобны, чем производное, и сильно удерживаются на гидрофобизованных силикагелях; 6. экономичность анализа: меньшая гидрофобность ДМГГ по сравнению с производными НДМГ с ароматическими альдегидами позволяет до 10 раз сократить расход ацетонитрила.

Таким образом, разработанный подход, основанный на применении реакционной ОФ ВЭЖХ с предварительной дериватизацией глиоксалем, позволил решить задачу определения НДМГ на уровне 10^{-7} г/л (требования ПДК_{рх}) без концентрирования производного и предложить надежную, простую и экспрессную методику определения НДМГ в природных водах.

Сорбционно-хроматографическое определение 1,1-диметилгидразина

Для дополнительного повышения чувствительности определения НДМГ предложили использовать сорбционное концентрирование производных, как вариант,

обеспечивающий наилучшее сочетание с последующим ВЭЖХ анализом и возможность достижения высоких коэффициентов концентрирования. Условия сорбционного концентрирования подбирали экспериментально, учитывая необходимость достижения как минимум 50-кратной степени концентрирования. Последовательно выясняли условия количественной сорбции и десорбции производных (табл. 7). Помимо ГО и 4-НБА для сорбционно-хроматографического определения применяли 4-хлор-5,7-динитробензофуразан (дБФЗ). Его производное с НДМГ обладает необходимыми свойствами - высокой интенсивностью поглощения, достаточной гидрофобностью и существенным различием в удерживании с реагентом (более того, в результате гидролиза образуется гидрофильное производное, обладающее меньшим удерживанием по сравнению с производным).

Таблица 7. Условия сорбционного концентрирования производных с НДМГ* и некоторые характеристики их сорбционно-хроматографического определения

| Реагент | V пробы, мл | V элюента, мл | V концентрата, мл | C_{min} , мкг/л | Диапазон линейности, мкг/л | s_r (n=3) |
|---------|-------------|---------------|-------------------|-------------------|----------------------------|-------------|
| ГО | 25 | 2 | ~0,5 (0,5 г) | 0,05 | 0,010-20 | 0,18 |
| 4-НБА | 50 | 3 | 1,0 | 0,12 | 0,025-20 | 0,21 |
| дБФЗ | 100 | 5 | 1,0 | 0,02 | 0,05 – 1,0 | 0,08 |

* картридж Strata SDB-L (500 мг/ 3 мл)

Для снижения трудоемкости концентрирования в off-line варианте сорбционного концентрирования и увеличения производительности анализа разработан способ высокочувствительного определения НДМГ с динамическим сорбционным on-line концентрированием производного с дБФЗ на концентрирующей колонке с сорбентом Synergi Hydro (10 мкм) в самом распространенном варианте, когда концентрирующая колонка устанавливается вместо петли в дозатор хроматографа. Предел обнаружения НДМГ составил 2 нг/л при обработке 100 мл пробы. По сравнению с off-line вариантом 10-кратное повышение чувствительности обеспечило полное использование концентрата. Диапазон определения НДМГ метрологически аттестованной методики составил 0,005 – 10 мкг/л. Хроматограмма пробы воды с добавкой 0,05 мкг/л НДМГ в присутствии ДМА, как наиболее вероятного мешающего компонента, представлена на рис. 10. Таким образом, реализованы подходы к сорбционно-жидкостно-хроматографическому определению НДМГ на уровне 10^{-8} г/л в соответствии с требованиями ОДУ (0,06 мкг/л) в водах культурно-бытового и хозяйственно-питьевого назначения.

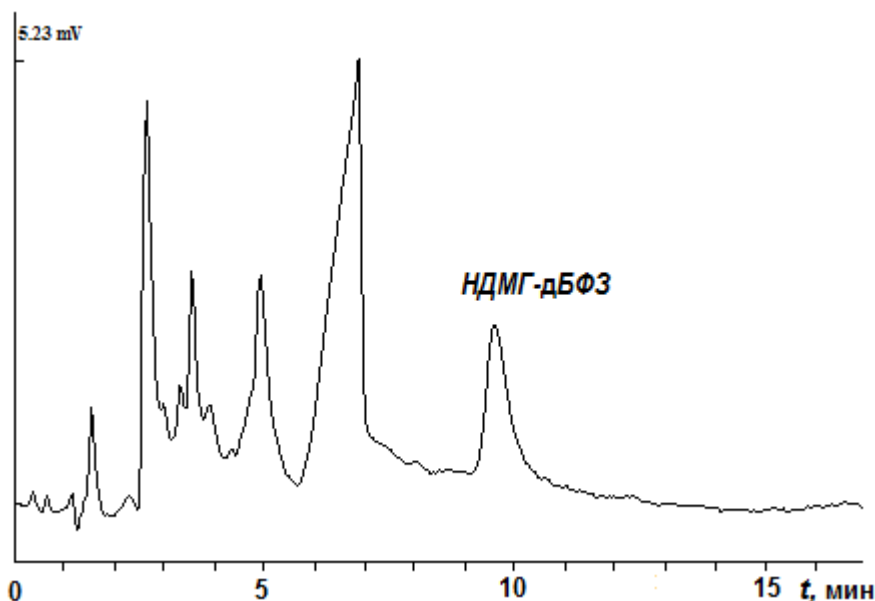


Рис. 10. On-line сорбционно-хроматографический анализ образца природной воды с добавкой 0,05 мкг/л НДМГ и 50000 мкг/л ДМА. Концентрирующая колонка: Synergi Hydro C18 (4×50 мм). Объем пробы: 100 мл. Скорость подачи пробы: 4 мл/мин. Разделяющая колонка: Zorbax SB-C18 (4,6×150 мм). ПФ: 0,02 М фосфатный буферный раствор (рН 4,0), 48% MeCN. F = 1 мл/мин. Спектрофотометрический детектор, $\lambda = 550$ нм.

Идентификация продуктов трансформации 1,1-диметилгидразина

Особенностями применяемого подхода к идентификации продуктов трансформации НДМГ в данной работе являлись достоверность идентификации благодаря использованию стандартов веществ предполагаемой структуры для окончательной идентификации и применение в качестве базового, т.е. определяющего наличие компонентов в смеси, метода ВЭЖХ-МС. Для идентификации использовали следующий алгоритм:

1. Определяли количество соединений в смеси и их молекулярную массу из ВЭЖХ-МС хроматограмм. Добивались максимально возможного разделения компонентов смеси, варьируя хроматографические параметры, принятые для каждого из двух методов разделения – ионной и обращенно-фазовой хроматографии. Детектирование проводили по полному ионному току с использованием электрораспылительной ионизации, интервал регистрируемых значений m/z 25-150. В режиме реконструкции хроматограмм выбирали пики, обладающие максимальной интенсивностью, относящиеся к продуктам трансформации НДМГ. Определяли количество соединений в смеси и их молекулярную массу, учитывая, что, как правило, для ЖХ-МС спектра исследуемых соединений характерно образование протонированных молекул MH^+ .
2. Находили молекулярные формулы для идентифицируемых соединений. Для выбранных пиков из масс-спектров на основе изотопного расщепления, а также азотного правила и правил формальной валентности находили предположительную молекулярную формулу идентифицируемого компонента.
3. Устанавливали предположительную структуру компонентов смеси, используя информацию о наличии пиков фрагментных ионов в масс-спектрах, а также дополнительные методы ВЭЖХ-УФ, ВЭЖХ-АД, ГХ-МС, ЯМР, в том числе после

препаративного выделения, а также исходя из закономерностей удерживания веществ известных для ИХ и ОФ ВЭЖХ.

4. Подтверждали идентификацию, сравнивая свойства идентифицируемого вещества и стандарта с предполагаемой структурой.

Таблица 8. Результаты идентификации продуктов трансформации НДМГ

| № | Соединение | Структура | М, г/моль | ЭРИ* (+) масс-спектр | λ_{\max} , нм | Электро- активность, E = 1,3 В | Способ идентификации |
|----|--|-----------|--------------|---|--------------------------|--------------------------------------|-------------------------|
| 1 | Диметиламин (ДМА) | | 45 | 46 МН ⁺ | — | — | ИХ-МС |
| 2 | Метилгидразин (МГ) | | 46 | 47 МН ⁺ | — | + | ИХ-МС, ИХ-АД |
| 3 | Диметилгидразон формальдегида (ДМГФ) | | 72 | 73 МН ⁺ | 238 | + | ВЭЖХ-МС, ВЭЖХ-УФ |
| 4 | Триметил- гидразин (ТМГ) | | 74 | 75 МН ⁺ | — | + | ИХ-МС, ИХ-АД |
| 5 | Нитрозодиметил- амин (НДМА) | | 74 | 75 МН ⁺ , 44 (СН ₃) ₂ N ⁺ | 230 | — | ВЭЖХ-МС, ВЭЖХ-УФ |
| 6 | 1-Метил-1,2,4- триазол (МТ) | | 83 | 84 МН ⁺ | 240 | — | ИХ-МС, ГХ-МС, ЯМР |
| 7 | Диметилгидразид муравьиной кис- лоты (ДМГМК) | | 88 | 89 МН ⁺ , 44 (СН ₃) ₂ N ⁺ | 210 | + | ИХ-МС, ГХ-МС, ЯМР |
| 8 | 1,5,5-триметил- формазан (ТМФ) | | 114 | 115 МН ⁺ | 230 340 | + | ИХ-МС, ГХ-МС, ЯМР |
| 9 | 1-метил-1,6- дигидро-1,2,4,5- тетразин | | 98 | 98 МН ⁺ | 238 330 420 | + | ЯМР |
| 10 | N,N-Диметил- гуанидин (ДМГу) | | 87 | 88 МН ⁺ , 71 (МН ⁺ /NH ₃) | 218 | — | ИХ-МС |
| 11 | Диметилгидразон ацетальдегида (ДМГА) | | 87 | 88 (МН ⁺) | 210 | + | ВЭЖХ-МС, ВЭЖХ-УФ |
| 12 | 1,1,4,4- Тетраметил-2- тетразен (ТМТ) | | 116 | 116 (М ⁺) 117 (МН ⁺) | 280 | + | ВЭЖХ-МС, ВЭЖХ-УФ |
| 13 | Диметилгидразон глиоксаля (ДМГГ) | | 142 | 143 (МН ⁺) | 312 | + | ВЭЖХ-МС, ВЭЖХ-УФ |

Были достоверно идентифицированы 12 соединений, из них такие соединения как диметилгидразид муравьиной кислоты и 1,1-диметилгуанидин ранее не упоминались в литературе даже как предположительные продукты трансформации НДМГ (табл. 8).

Структура 1-метил-1,6-дигидро-1,2,4,5-тетразина не подтверждена окончательно из-за отсутствия методики синтеза этого соединения. Результаты идентификации продуктов трансформации показывают, что ряд продуктов (далее – **активные продукты трансформации**), содержат в своей структуре фрагмент НДМГ и способны при щелочном и кислом гидролизе превращаться в исходный НДМГ. Так как НДМГ извлекают из почв щелочной дистилляцией, вследствие гидролиза продуктов трансформации определяют суммарно нативный НДМГ и НДМГ, образующийся в ходе пробоподготовки из активных продуктов трансформации.

Токсичность продуктов трансформации 1,1-диметилгидразина

Выполнено сравнительное экспериментальное исследование токсичности НДМГ и продуктов его трансформации с помощью комплекса методик биотестирования (табл. 9).

Таблица 9. Значения пороговых (Lim C) и среднееффективных (EC₅₀) концентраций для НДМГ и продуктов его трансформации по результатам биотестирования

| Вещество | LD ₅₀ , мг/л | | Lim C ^{**} , мг/л | EC ₅₀ , мг/л | Lim C | EC ₅₀ |
|-----------------------|---|--|--|--|-----------------------------------|------------------|
| | Простейшие инфузории <i>Paramecium caudatum</i> | Ракообразные <i>Ceriodaphnia affinis</i> | Половые клетки млекопитающих <i>in vitro</i> | Зеленые водоросли <i>Scenedesmus quadricauda</i> | Овес посевной <i>Avena sativa</i> | |
| НДМГ | 0,4 | 3,9 | 75 | 10 | 30 | 150 |
| Гидразин | 1,0 | – | 50 | – | 9 | 30 |
| ДМГМК | 36 000 | 5900 | 1500 | 23600 | 2300 | 6400 |
| 1-метил-1,2,4-триазол | 9,8 | – | 10000 | – | 1500 | 4200 |
| диметиламин | 170 | – | 100 | – | 790 | 1800 |
| 1,1-диметилгуанидин | 340 | – | 2000 | – | 43 | 130 |
| нитрозо-диметиламин | 11 500 | – | 1000 | – | 1300 | 3400 |
| тетраметил-2-тетразен | 540 | – | 10 | – | - | - |

** пороговая концентрация при It = 80%.

Показано, что в результате трансформации НДМГ не образуются продукты более токсичные, чем НДМГ (за исключением, может быть, гидразина, который имеет и самостоятельное значение как ракетное топливо и неустойчив в окружающей среде). При этом структурный аналог НДМГ – ДМГМК, ошибочно принимаемый за НДМГ на месте старых разливов, характеризуется существенно меньшей острой токсичностью (ниже в 20-100000 раз). Из-за меньшей токсичности активных продуктов трансформации обоснована необходимость дифференцирования свободного НДМГ и активных продуктов трансформации для адекватной оценки воздействия ракетно-космической деятельности на окружающую среду.

Определение продуктов трансформации 1,1-диметилгидразина

В работе последовательно решали задачи разработки методик определения продуктов трансформации НДМГ и изучения поведения НДМГ в окружающей среде с применением разработанных методик. Базовым методом для создания методик определения продуктов трансформации НДМГ благодаря ее универсальности была выбрана жидкостная хромато-масс-спектрометрия. Предложено проводить разделение продуктов трансформации на катионообменнике Nucleosil 5 SA при элюировании ацетатно-аммонийным буферным раствором с pH 5,4 и МС-детектированием по выделенным ионам. Пример разделения ряда продуктов приведен на рис. 11.

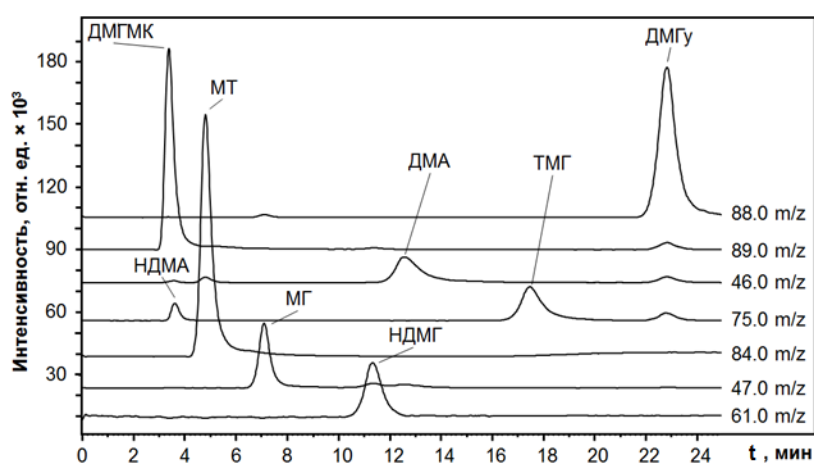


Рис. 11. Хроматограмма НДМГ и продуктов его трансформации, Колонка: Nucleosil 5 SA (2x150 мм). Программа градиента: А – 200 мМ аммонийно-ацетатного буферного раствора, В – ацетонитрил, С – вода; 0-5 мин В – 3%, 0-3 мин С – 47%, 3-10 мин С – 87-5%, 5-10 мин В – 3-35%, 10-22 мин С – 5%, В – 35%, 22-25 мин С – 47%, В – 3%. F = 0,2 мл/мин. МС-детектирование, ХИАД (+), регистрация по выделенным ионам. Объем пробы: 80 мкл.

Пределы обнаружения продуктов трансформации находятся в диапазоне 0,003-0,06 мг/л. Диапазон линейности детектирования достаточно широк (как минимум 3 порядка изменения концентрации), что позволяет использовать ИХ-МС для количественного описания трансформации НДМГ.

Для извлечения продуктов трансформации НДМГ из почв были изучены несколько вариантов. В условиях варьирования типа почвы и концентрации токсиканта дистилляция из щелочной суспензии образцов почв (навеска почвы 5 г, раствор для отгонки – 40 мл 40 мМ NaOH) обеспечивала степени извлечения ДМГМК, МТ и ДМА на уровне 85-95%. При этом ДМГМК превращался в НДМГ и его концентрацию определяли косвенно по НДМГ, применяя метод ИХ-АД. Но в присутствии НДМГ или других активных продуктов трансформации определение ДМГМК невозможно. Другой недостаток этого варианта извлечения – невозможность дистилляции ДМГу, который является сильным основанием.

При варьировании условий проведения однократной экстракции органическим растворителем показано, что удастся достичь не более 60%-ного извлечения МТ и

ДМГМК из почв. Предложено проводить непрерывную экстракцию метанолом - растворителем, показавшим максимальное извлечение при однократной экстракции, в течение 8 часов, что обеспечивает количественное извлечение этих продуктов трансформации. Упаривание экстракта способствует снижению предела обнаружения для определения ДМГМК в почвах методом ВЭЖХ-МС (табл. 10). Подобран состав вытяжки для извлечения МТ, ДМА и ДМГу из почв. Применение раствора высокой ионной силы с щелочным рН (1 М КСl, 1 М $\text{CH}_3\text{COONH}_4/\text{NH}_4\text{OH}$, рН 10) в соотношении почва-вытяжка (1:5) позволило одновременно извлекать количественно и определять все три соединения в почвенной вытяжке методом ВЭЖХ-МС. Разработанные методики определения продуктов трансформации в почвах метрологически аттестованы и использованы для анализа почв, загрязненных НДМГ, а также для изучения поведения НДМГ при проливах на почву.

Таблица 10. Метрологические характеристики методик определения продуктов трансформации НДМГ в почвах (n = 20)*

| Аналит | C_{\min} , мг/кг | Диапазон определяемых концентраций, мг/кг | r^2 | $s_r(C_n)$ |
|---|--------------------|---|-------|------------|
| Методика определения ДМГМК в почвах (ФР.1.31.2009.06791) | | | | |
| ДМГМК | 0,004 | 0,01-20 | 0,995 | 0,12 |
| Методика определения ДМГу, МТ и ДМА в почвах (ФР.1.31.2009.06792) | | | | |
| МТ | 0,01 | 0,05-100 | 0,997 | 0,11 |
| ДМГу | 0,01 | 0,05-100 | 0,998 | 0,10 |
| ДМА | 0,1 | 0,25-250 | 0,994 | 0,10 |

* Объем вводимой пробы: 0,08 мл

Методология определения 1,1-диметилгидразина в почвах

Определение НДМГ в почвах является наиболее востребованным анализом для экологического сопровождения РКД, поскольку почвы - основная депонирующая среда экотоксикантов РКД. В условиях, когда для определения одного и того же показателя «концентрация НДМГ в почве» предписаны разные варианты пробоподготовки, в ходе выполнения данной работы был выявлен и решен ряд серьезных проблем, присущих методическому обеспечению, предназначенному для определения НДМГ в почвах. Прежде всего, были найдены условия для количественного извлечения НДМГ из почв и предложен вариант пробоподготовки, характеризующийся правильностью определения НДМГ для почв любого типа. Далее учтено различие между НДМГ как таковым и НДМГ, образующимся в ходе пробоподготовки при извлечении из почв, с целью их ранжирования, поскольку эти формы существования НДМГ в почвах, как показано выше, различаются по токсичности. Было обосновано применение концепции

вещественного анализа применительно к НДМГ и разработаны методики определения его разных форм существования в почвах.

Взаимодействие НДМГ с минеральной и органической составляющими почв.

Моделирование сорбционного поведения НДМГ с отдельными составляющими почв позволило выявить особенности его взаимодействия с почвой, обосновать существование формы НДМГ, связанной с почвенным поглощающим комплексом, и использовать полученные данные для разработки методик извлечения НДМГ из почв.

Исследована сорбция НДМГ из водных растворов гуминовыми кислотами (Sigma-Aldrich, кат.№ Н16752), песком и белой глиной (каолинит). Степень сорбции НДМГ указанными объектами оценивали косвенно по остаточному содержанию в надосадочной жидкости, после чего проводили извлечение НДМГ с использованием различных вариантов жидкостной экстракции, а также отгонки с паром из 40%-го раствора NaOH.

Установлено, что сорбция НДМГ гуминовыми кислотами (ГК) при изменении нагрузки экотоксиканта от 0,4 до 200 мг/г (соответствует эквимольному содержанию карбонильных групп в исследуемом образце) уменьшается, при этом с увеличением нагрузки свыше 2 мг/г степень сорбции НДМГ резко падает ниже 90%. При максимальной нагрузке степень сорбции составила $42 \pm 3\%$.

При экстракции НДМГ из ГК водой, 0,1 М растворами HCl и KCl, 1%-ными растворами ГО и глиоксиловой кислоты степень извлечения не превышала 6%, что позволило исключить ионообменный механизм сорбции и сделать вывод о хемосорбционном механизме связывания НДМГ гуминовыми кислотами. Предложенный в работе подход для извлечения НДМГ из почв – дистилляция из 40%-го раствора NaOH – обеспечивает количественное извлечение ($90 \pm 3\%$, $n = 3$, $P = 0,95$) НДМГ из ГК при внесении экотоксиканта в их суспензию непосредственно перед дистилляцией. При этом щелочная дистилляция из образцов ГК после установления сорбционного равновесия (1,5 ч. взаимодействия) извлекает НДМГ на уровне 20%, что предполагает помимо образования гидразоновых связей, разрушающихся в ходе щелочного гидролиза, другие механизмы хемосорбции НДМГ гуминовыми кислотами, например, реакцию нуклеофильного присоединения НДМГ в кольцо хинонных группировок ГК. В последнем случае соединение не допускает его обратный переход в НДМГ и, как следствие, не является формой НДМГ. В то время как извлекаемая в ходе щелочной дистилляции из ГК часть НДМГ может рассматриваться как связанная с почвенным поглощающим комплексом форма его существования.

Установлено, что сорбционная способность минеральной части почвы существенно ниже, чем для ГК, и соотносится как 200:10:1 для гумуса, глины и песка соответственно

при нагрузке НДМГ 2 мг/г, что говорит о значительной роли ГК (и органического вещества почвы в целом) в удерживании НДМГ почвами. С учетом того, что сорбированный минеральной частью почвы НДМГ легко извлекается водными экстрагентами (водой -50-80%, растворами солей, ГО - 85-100%), можно полагать, что удерживание НДМГ в составе почвенного поглощающего комплекса обусловлено органической частью почвы.

Таким образом, показано, что НДМГ достаточно сильно удерживается ГК в результате хемосорбции. Его извлечение возможно только в результате дистилляции при высокой концентрации щелочи. Извлекаемый НДМГ из комплекса с ГК может рассматриваться как форма НДМГ, связанная с почвенным поглощающим комплексом.

Определение валовой концентрации НДМГ. В результате проведенных исследований, продемонстрировавших наличие продуктов трансформации, способных к обратной трансформации в НДМГ (активных продуктов трансформации), а также связывание НДМГ с почвенным поглощающим комплексом, стало понятно, что определение НДМГ в почвах является сложной задачей не только с методической, но и методологической точек зрения. Один из возможных вариантов решения проблемы определения НДМГ в почвах связан с допущением о равной токсичности извлекаемого из почв НДМГ вне зависимости от формы его существования в почве. В этом случае методически верно добиться количественного извлечения всех форм НДМГ, и определяемая концентрация НДМГ будет представлять собой валовый показатель.

Известны официальные нормативные документы для определения НДМГ в почвах: **методика I** (МУК 4.1.019-11) – основана на кислотной экстракции (1 М HCl) почвы с последующей дистилляцией НДМГ из подщелаченного экстракта; **методика II** (РД 52.18.579-97) – основана на отгонке НДМГ из суспензии почвы, подщелаченной добавкой сульфида натрия. Показано, что предложенная в данной работе **методика III** (ФР.1.31.2008.04406) определения валовой концентрации НДМГ в почвах, основанная на отгонке НДМГ с паром из суспензии почвы в 40%-ном растворе NaOH с добавкой сульфида натрия, характеризуется максимальными результатами определения НДМГ в почвах. Например, в реальном образце дерново-подзолистой почвы ($n = 5$, $P = 0,95$) с площадки, загрязненной НДМГ, найдены следующие концентрации НДМГ, мг/кг: I - $0,09 \pm 0,01$, II - $2,0 \pm 0,3$, III - $4,7 \pm 0,4$. Исходя из результатов по извлечению НДМГ из комплекса ГК различными экстрагентами, ожидаемо получение наименьшего результата определения для методики I. Понятно, что применение вытяжек не может обеспечить количественного извлечения НДМГ и определения валовой концентрации, а определяемая концентрация по методикам с кислотной экстракцией должна быть уточнена как кислотоизвлекаемая форма НДМГ для их формальной правильности.

На примере анализа почв с добавками ДМГМК показано, что методики II и III дают сопоставимые результаты определения той доли НДМГ, вклад которой в валовую концентрацию обусловлен активными продуктами трансформации. При сравнении результатов определения НДМГ при внесении нативного экотоксиканта наблюдается занижение результатов определения для методики II в случае анализа почв с высоким содержанием гумуса и кислыми значениями pH (табл. 11).

Таблица 11. Влияние типа почвы на степень извлечения (*r*) НДМГ по методикам II и III при определении его валовой концентрации. Добавка НДМГ 250 мкг (*n*=3, *P*=0,95)

| Тип почвы | г, % | |
|---|--------------------|--------------------|
| | II | III |
| Горно-лесная дерново-глубокоподзоленная (горизонт A ₁ , pH 6,3) | 33±7 (6,3±1,4)* | 93±11 (88±14)* |
| Чернозем южный (горизонт A _д , pH 5,9) | 47±8 (9±2)* | 88±10 (102±16)* |
| Чернозем южный (горизонт A ₁ , pH 6,5) | 57±6 | 95±8 |
| Солонец гидроморфный черноземно-луговой (горизонт C _г , pH 8,7) | 99±6 | 97±12 |
| Солончак гидроморфный сорový (горизонт C, pH 8,7) | 95±8 | 85±15 |
| Солонец автоморфный черноземный солончаковый (горизонт B _t , pH 8,7) | 92±14 | 91±10 |
| Солонец гидроморфный черноземно-луговой (горизонт C, pH 8,5) | 91±10 | 94±9 |

* – добавка НДМГ 25 мкг.

Предложенная нами методика пробоподготовки (методика III) для определения НДМГ в почвах универсальна и обеспечивает количественное извлечение для любых типов почв. На примере анализа реальных проб почв, загрязненных НДМГ, также продемонстрировали отсутствие систематических погрешностей, связанных с изменением степени извлечения при увеличении концентрации НДМГ в реакционной смеси и массы навески почвы. Таким образом, разработана методика количественного извлечения НДМГ из почв, обеспечивающая определение его валовой концентрации.

Применение концепции вещественного анализа при определении НДМГ. Другая методология определения НДМГ в почвах состоит в учете химической природы существования НДМГ в почвах. Предложено дифференцировать нативный (свободный) НДМГ и его форму, хемосорбционно связанную с почвенным поглощающим комплексом, и обозначать ее как «НДМГ, связанный с почвенным поглощающим комплексом» (табл. 12). А также отдельно учитывать активные продукты трансформации – вещества с фрагментом НДМГ (гидразоны, гидразиды, формазаны и др.), менее токсичные, чем нативный НДМГ – в виде «водорастворимой подвижной связанной формы». Данная классификация основана на разной токсичности и подвижности форм.

Таблица 12. Формы НДМГ в почвах

| № | Форма НДМГ | Природа формы | Извлечение |
|---|--|--|---|
| 1 | Свободный НДМГ | НДМГ, растворенный в составе почвенного раствора и сорбированный минеральной основой почвы | Извлекается водной вытяжкой |
| 2 | Водорастворимая подвижная форма НДМГ | Сумма водорастворимых свободной и связанной форм НДМГ | Извлекается водной вытяжкой с последующей дистилляцией НДМГ с паром после подщелачивания вытяжки |
| 3 | Водорастворимая подвижная связанная форма НДМГ | Активные продукты трансформации НДМГ, переходящие в водную вытяжку | Расчетный метод: разность между (2) и (1) |
| 4 | Форма НДМГ, связанная с почвенным поглощающим комплексом | Обратимо хемисорбированный органическими компонентами почвы НДМГ | Выделяется в условиях отгонки в присутствии 40%-ного раствора NaOH из осадка после приготовления водной вытяжки |
| 5 | Кислоторастворимый подвижный НДМГ | Сумма кислоторастворимых свободной и связанной форм НДМГ | Вытяжка 1М соляной кислотой, подщелачивание, дистилляция с паром |
| 6 | Валовый НДМГ | Сумма НДМГ и продуктов его трансформации | Отгонка с паром НДМГ, образующегося в ходе дистилляции из суспензии почвы в 40%-ном растворе NaOH |

Известно, что с точки зрения экологических последствий более опасными являются подвижные формы НДМГ. НДМГ, связанный с почвенным поглощающим комплексом, является менее токсичным по сравнению со свободным НДМГ благодаря плотному закреплению и неспособности к миграции, в том числе и по пищевым цепочкам. Подвижные формы НДМГ извлекают водной вытяжкой. Выбор воды в качестве экстрагента обусловлен хорошей экстрагирующей способностью этого растворителя для таких полярных веществ, как НДМГ и его продукты трансформации. Существуют две подвижных формы в составе водной вытяжки: *свободный НДМГ* и *связанный НДМГ*.

Определение свободной водорастворимой формы НДМГ проводят в водной вытяжке методом ИХ-АД. Сумму водорастворимых форм НДМГ определяют после перегонки вытяжки в сильнощелочной среде, подвергая гидролизу соединения связанной водорастворимой формы до НДМГ и отгоняя в приемник как свободный НДМГ, так и НДМГ, образовавшийся в ходе гидролиза. Определение массовой концентрации НДМГ, соответствующей сумме водорастворимых форм, проводят в дистилляте также методом ИХ-АД. Концентрацию связанной водорастворимой формы НДМГ находят по разности. В условиях, когда затруднительно определение каждого из активных продуктов трансформации индивидуально, возможно групповое определение активных продуктов трансформации, используя общее их свойство переходить в НДМГ при щелочном гидролизе.

Изучение трансформации 1,1-диметилгидразина в почвах

Разработанные методики использованы для изучения превращения НДМГ после его пролива в почву. Результаты определения его различных форм при внесении в разные типы почв в условиях моделирования разных полевых режимов (в почвы, высушенные до воздушно сухого состояния, и в состоянии естественной влажности - 60 % от предельной полевой влагоемкости) приведены в таблице 13.

Таблица 13. Результаты определения валового (НДМГ_В), свободного (НДМГ_С) и подвижной водорастворимой формы* (НДМГ_{ПВ}) 1,1-диметилгидразина и диметилгидразида муравьиной кислоты (ДМГМК) в почвах ($P = 0,95, n = 3$). Нагрузка – 240 г/кг

| Тип почвы | Время, сут | Концентрация НДМГ, мг/кг | | | ДМГМК | |
|----------------------|---|--------------------------|-------------------|--------------------|---------------------|------------------------|
| | | НДМГ _В | НДМГ _С | НДМГ _{ПВ} | Концентрация, мг/кг | % от НДМГ _В |
| песчаная пустынная | Воздушно-сухая почва | | | | | |
| | 3 | 540±50 | 6,3±1,9 | 340±60 | 140±15 | 18 |
| | 10 | 450±30 | 6,3±1,9 | 290±40 | 35±4 | 5 |
| | 30 | 270±20 | 5,4±1,7 | 200±40 | 70±6 | 17 |
| | 90 | 160±40 | 3,4±1,3 | 140±30 | 30±3 | 13 |
| | Почва при естественном уровне влажности | | | | | |
| | 3 | 58000±14000 | 38000±12000 | 32000±13000 | 151±14 | 18 |
| | 10 | 620±25 | 2,5±0,4 | 580±60 | 500±40 | 55 |
| | 30 | 530±40 | 1,6±0,3 | 220±40 | 164±17 | 21 |
| | 90 | 82±7 | 0,6±0,2 | 25±7 | 21±4 | 17 |
| серо-бурая пустынная | Воздушно-сухая почва | | | | | |
| | 3 | 780±50 | 12±4 | 350±50 | 110±11 | 10 |
| | 10 | 530±40 | 15±2 | 320±40 | 50±5 | 6 |
| | 30 | 350±40 | 1,6±0,2 | 230±40 | 80±9 | 15 |
| | 90 | 280±30 | 1,7±0,8 | 170±30 | 55±14 | 13 |
| | Почва при естественном уровне влажности | | | | | |
| | 3 | 73000±15000 | 40000±16000 | 36000±16000 | 98±4 | 9 |
| | 10 | 810±25 | 2,4±0,8 | 760±80 | 750±50 | 63 |
| | 30 | 710±40 | 1,4±0,5 | 360±60 | 280±20 | 27 |
| | 90 | 490±20 | 0,4±0,1 | 150±30 | 40±5 | 6 |
| дерново-подзолистая | Воздушно-сухая почва | | | | | |
| | 3 | 2750±300 | 66±12 | 840±90 | 380±45 | 9 |
| | 10 | 2550±110 | 71±17 | 840±80 | 142±14 | 4 |
| | 30 | 1600±240 | 1,3±0,8 | 720±60 | 163±16 | 7 |
| | 90 | 890±40 | менее 0,01 | 370±50 | 110±20 | 8 |
| | Почва при естественном уровне влажности | | | | | |
| | 3 | 157000±36000 | 67000±11500 | 51000±18000 | 104±10 | 4 |
| | 10 | 3650±140 | 74±6 | 1900±300 | 1650±80 | 31 |
| | 30 | 2500±400 | 14±4 | 870±80 | 310±20 | 8 |
| | 90 | 1200±200 | менее 0,01 | 290±40 | 90±8 | 5 |

Установлено, что происходит трансформация свободного НДМГ в связанные формы, при этом скорость трансформации достаточно велика: при нагрузке 240 г/кг через 10 суток более 98% от валовой концентрации НДМГ составляют связанные формы (табл. 13). При меньшей нагрузке скорость трансформации НДМГ в почвах еще больше

увеличивается.

При анализе реальных проб с мест пролива НДМГ установлено, что концентрация свободного НДМГ может быть ниже предела обнаружения методики, т.е. переход НДМГ в связанные формы - это факт, заслуживающий самого серьезного внимания для формирования современных представлений о воздействии проливов НДМГ и решении проблем, связанных с обеспечением экологической безопасности РКД.

Таким образом, показано, что НДМГ претерпевает трансформацию в связанные формы, отличные по своей природе от нативного НДМГ, что является новым взглядом на поведение НДМГ в природной среде и, соответственно, на степень его экологической опасности. Завершением трансформации НДМГ предложено считать момент времени, когда концентрация НДМГ в почве становится ниже $\frac{1}{2}$ ПДК.

Установлено, что в ходе трансформации (табл. 13) водорастворимые связанные формы могут составлять от 25 до 90% от валовой концентрации НДМГ. Как следствие, образование активных продуктов трансформации необходимо учитывать и при разработке современных представлений о воздействии ракетно-космической деятельности на окружающую среду, санитарно-гигиеническом нормировании, и при разработке технологий детоксикации разливов ракетного топлива.

При исследовании почв методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии было установлено, что в образцах присутствуют ДМА, МТ, ДМГМК и ДМГу в концентрациях, сопоставимых с остаточным валовым НДМГ, что подтвердило образование этих продуктов при проливах НДМГ и необходимость контроля их содержания в почвах в ходе экологической оценки воздействия РКД.

ДМГМК – яркий пример того, что выполненная в работе идентификация продуктов трансформации позволяет по-новому рассматривать проблему токсичности НДМГ в почвах и способствует пониманию роли активных продуктов трансформации при рассмотрении поведения НДМГ в окружающей среде. Результаты определения ДМГМК в почвах демонстрируют, что этот продукт трансформации является одним из ключевых, поскольку его концентрация в составе валового НДМГ в зависимости от условий трансформации может достигать более 50% (табл. 13).

Методическое обеспечение для экологического мониторинга ракетно-космической деятельности

Перечень разработанных в работе методик приведен в таблице 14. Более полная информация об аттестованных методиках доступна на портале Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений <http://www.fundmetrology.ru/> и химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова <http://www.eco.chem.msu.ru/ru/methods/dimethylhydrazine.html>.

Таблица 14. Методики определения гидразинов

| Объект анализа | Определяемые компоненты | Метод | Диапазон определяемых содержаний | Номер в Федеральном реестре МВИ |
|----------------|--------------------------------------|------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Природные воды | НДМГ | ИХ-АД | 0,01-0,2 мг/л | № 1-99* |
| | ТМТ | ИХ-АД | 0,05-5,0 мг/л | ФР.1.31.2009.06789 |
| | НДМГ | ИХ-АД | 0,0002-0,1 мг/л | ФР.1.31.2008.04403 |
| | Ги | ИХ-АД | 0,001-0,8 мг/л | ФР.1.31.2008.04405 |
| | МГ | | 0,002-1,6 мг/л | |
| | НДМГ | | 0,004-2,0 мг/л | |
| | ТМТ | | 0,01-4,0 мг/л | |
| | Ги | ОФ РЖХ-ФЛД с НДА | 0,0001-0,05 мг/л | ФР.1.31.2009.06788 |
| | НДМГ | Сорбционно-ОФ РЖХ-СФД с дБФЗ | 0,005-10 мкг/л | ФР.1.31.2010.07897 |
| | Ги | ИПХ-АД | 0,003-0,8 мг/л | - |
| | МГ | | 0,007-1,0 мг/л | |
| | НДМГ | | 0,007-1,0 мг/л | |
| | ТМТ | | 0,01-1,0 мг/л | |
| | НДМА | ИПХ-СФД | 0,01-1,0 мг/л | - |
| | ГЭГ | ОФ РЖХ-СФД | 0,001-10 мг/л | |
| | МГ | | 0,001-10 мг/л | |
| | НДМГ | | 0,0005-10 мг/л | |
| НДМГ | Сорбционно-ОФ РЖХ-СФД с ГО | 0,01-20 мкг/л | - | |
| НДМГ | Сорбционно-ОФ РЖХ-СФД с 4-НБА | 0,025-20 мкг/л | - | |
| Почва | НДМГ кислото-извлекаемая форма | ИХ-АД | 0,05-10 мг/кг | ФР.1.31.2009.05465 |
| | ТМТ | ИХ-АД | 0,12-12 мг/кг | ФР.1.31.2009.06790 |
| | НДМГ валовая форма | ИХ-АД | 0,05-10 мг/кг | ФР.1.31.2008.04406 |
| | НДМГ свободная водорастворимая форма | ИХ-АД | 0,05-10 мг/кг | ФР.1.31.2009.05461 |
| | НДМГ связанная водорастворимая форма | ИХ-АД | 0,05-10 мг/кг | ФР.1.31.2009.05462 |
| Мышечная ткань | НДМГ | ИХ-АД | 0,1-20 мг/кг | № 34-02* |
| Моча | НДМГ | ИХ-АД | 0,01-2,0 мг/л | № 35-02* |
| Кровь | НДМГ | ИХ-АД | 0,1-20 мг/кг | № 36-02*- |
| Растения | НДМГ несвязанная форма | ИХ-АД | 0,1-10 мг/кг | ФР.1.31.2009.05465 |
| | НДМГ валовая форма | ИХ-АД | 0,1-10 мг/кг | - |

*номер свидетельства об аттестации во ФГУП ВНИИМС Ростехрегулирования

Известные хроматографические методики, применяемые при определении гидразинов, предполагают следующие стадии: выделение из объекта в водную фазу (для твердых проб) (1) → дериватизация (2) → очистка от реагента (3) → концентрирование (включая смену матрицы пробы с водной на органическую) (4) → упаривание концентрата до минимального объема (5) → определение (6). Предложенные в работе подходы, основанные на прямых методах определения гидразинов: ионной и ион-парной хроматографии, позволяют существенно упростить подготовку проб к анализу, поскольку не требуется дериватизация или смена матрицы пробы. При этом амперометрическое детектирование является настолько чувствительным, что позволяет определять гидразины без дополнительного концентрирования на уровне 10^{-6} г/л и $10^{-7}\%$ при анализе жидких и твердых проб. В результате, при анализе проб твердых объектов возможно сразу переходить от стадии (1) к (6), а при анализе проб вод вообще не требуется никакой пробоподготовки кроме фильтрования пробы, что является несомненным преимуществом. Разработанные методики определения гидразинов и ТМТ методом ИХ-АД удовлетворяют по чувствительности ПДК экотоксикантов в объектах окружающей среды, а для биосред характеризуются на порядок меньшей нижней границей определяемых концентраций по сравнению своими аналогами со спектрофотометрическим окончанием (МУК 4.1.004-09, МУК 4.1.018-07).

Разработаны методики совместного определения НДМГ и продуктов трансформации в водах ион-парной хроматографией с одновременным спектрофотометрическим и амперометрическим детектированием, а также новых продуктов трансформации методами жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии. Одновременное определение нескольких компонентов позволяет минимизировать трудозатраты и снизить себестоимость эколого-аналитических работ.

Благодаря лучшим хромофорным и флуорофорным характеристикам производных с новыми реагентами снижены пределы обнаружения гидразинов методом реакционной ВЭЖХ, что позволило определять гидразин и НДМГ на уровне ПДК_{рх} для вод водоемов рыбохозяйственного назначения (на уровне 10^{-7} г/л) без предварительного концентрирования. Таким образом, разработанные методики помимо высокой чувствительности и селективности характеризуются большей простотой и включают только стадии: выделение из объекта в водную фазу (для твердых проб) (1) → дериватизация (2) → определение (6).

Предложены комбинированные варианты сорбционно-жидкостно-хроматографического определения гидразинов, что впервые обеспечило достижение пределов обнаружения гидразинов на уровне $10^{-9}\%$ и возможность разработки методик определения НДМГ в питьевых водах, удовлетворяющих по чувствительности современному

нормативу, лимитирующему содержание НДМГ ориентировочно-допустимым уровнем, составляющем 0,00006 мг/л. Разработаны методики с сорбционным концентрированием в off-line и on-line вариантах, применимые для лабораторий разного уровня оснащения.

Установлены условия для количественного извлечения НДМГ и продуктов его трансформации из почв и растений. Разработана методология определения НДМГ в почвах, предложены методики для определения его различных форм.

В практическом плане предложенные подходы позволили повысить правильность определения гидразинов и продуктов их трансформации, обеспечить надежность аналитических данных для экологического контроля ракетно-космической деятельности и снизить трудоемкость, временные затраты и стоимость определения, что позволило решить важную народнохозяйственную проблему.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполнения настоящей работы расширены возможности таких хроматографических методов, как ионная, ион-парная и реакционная жидкостная хроматография при определении гидразинов. Ионная и ион-парная хроматография предложены для прямого определения алкилгидразинов. Изучены закономерности удерживания как гидразинов, так и продуктов их трансформации, исследованы возможности различных вариантов их прямого детектирования. Для реакционной жидкостной хроматографии гидразинов разработаны новые варианты определения гидразинов, прежде всего, расширен круг реагентов, обеспечивающих большую чувствительность определения методами ОФ ВЭЖХ-СФД и ОФ ВЭЖХ-ФЛД по сравнению с ранее известными вариантами. Таким образом, предложены новые хроматографические подходы, обеспечивающие наилучшие возможности для решения задач определения гидразинов и продуктов трансформации НДМГ.

В связи со снижением санитарно-гигиенического норматива, лимитирующего концентрацию НДМГ в водах до 0,00006 мг/л, разработаны способы повышения чувствительности определения гидразинов, основанные на использовании аналитических реагентов с лучшими характеристиками по поглощению и устойчивости, а также выбраны условия сорбционно-хроматографического определения гидразинов. Для анализа объектов с твердой матрицей (почв, растений) и биосред предложены условия извлечения НДМГ, для анализа почв найдены условия извлечения практически значимых продуктов трансформации НДМГ. Разработаны методики одновременного определения нескольких гидразинов или НДМГ совместно с продуктами трансформации из одного ввода пробы в различных объектах. Все выполненные исследования оригинальны и расширяют

возможности современной аналитической химии гидразинов.

В практическом плане предложенные подходы позволили повысить правильность определения гидразинов и продуктов их трансформации, обеспечить надежность аналитических данных экологического контроля ракетно-космической деятельности и снизить трудоемкость, временные затраты и стоимость определения, что позволило решить важную народнохозяйственную проблему.

Проведена достоверная идентификация продуктов трансформации НДМГ с привлечением нескольких методов структурного анализа веществ и обязательным подтверждением путем сравнения аналитических сигналов идентифицируемого продукта трансформации и вещества-стандарта предполагаемой структуры. Отличие данной работы заключается в более строгом подходе к идентификации в отличие от применявшегося ранее подхода вероятностного совпадения библиотечных и экспериментальных масс-спектров ГХ-МС(ЭИ). Благодаря привлечению жидкостной хромато-масс-спектрометрии также идентифицированы новые продукты трансформации, идентификация которых была невозможна методом ГХ-МС из-за нелетучести и малой термической стабильности веществ. Найденные продукты трансформации важны для оценки экологического воздействия РКД на окружающую среду. Сформулировано представление об активных продуктах трансформации, веществах с фрагментом НДМГ, как о соединениях, способных в условиях, применяемых для извлечения НДМГ (щелочная дистилляция), превращаться в НДМГ. Демонстрировано, что эти соединения могут ошибочно приниматься за НДМГ. Разработаны методики определения важнейших продуктов трансформации НДМГ в почвах.

Методами биотестирования выявлена токсичность продуктов трансформации НДМГ, но при этом показана их существенно меньшая токсичность по сравнению с НДМГ. Полученные результаты важны для адекватной эколого-гигиенической оценки загрязнения окружающей среды НДМГ. Наряду с исследованием токсичности проведено исследование поведения НДМГ в почвах, демонстрирующее высокую сорбционную способность гуминовых кислот и сильное удерживание ими НДМГ.

В работе предложена концепция вещественного анализа для определения НДМГ в почвах, что обеспечивает правильность и адекватность результатов анализа почв при загрязнении НДМГ. Подтверждено существование разных форм НДМГ в почвах: свободного (нативного) НДМГ, водорастворимого связанного НДМГ, источником которого являются активные продукты трансформации, и НДМГ, связанного с органической частью почвы. Значение последних двух форм связано с их меньшей токсичностью и необходимостью их дифференцирования от свободного НДМГ.

Предложен способ количественного извлечения НДМГ из почв, основанный на дистилляции из ее суспензии в 40%-ном растворе NaOH, обеспечивающий извлечение всех форм НДМГ и, таким образом, определение валовой концентрации этого экотоксиканта. Разработаны также методики раздельного определения форм НДМГ.

Показано, что в ходе трансформации НДМГ в почвах убывает доля свободного НДМГ и увеличивается доля связанных форм. Предложено считать трансформацию НДМГ завершенной, когда концентрация НДМГ в почве становится ниже $\frac{1}{2}$ ПДК.

В результате исследований предложена новая система представлений о поведении НДМГ в природной среде, заключающаяся в его превращении в связанные, менее токсичные формы, что существенно меняет взгляды на экологическую опасность проливов НДМГ в окружающую среду.

На основании полученных представлений о поведении НДМГ, его продуктах трансформации, их поведении в хроматографических системах разработаны более 20 методик определения гидразинов и продуктов трансформации НДМГ в объектах окружающей среды и биосредах. Данные методики внедрены в лабораториях Федерального космического агентства и рекомендованы в качестве арбитражных при исследованиях проб, связанных с экологическим контролем и мониторингом окружающей среды в районах падения и на космодромах. Разработанные методики определения гидразинов демонстрируют широкие возможности предложенных в работе подходов для определения гидразинов и перспективы их дальнейшего применения не только в экологическом анализе, но и в других областях приложения химического анализа, таких как фармацевтика и фармакология, токсикология, агрохимия, энергетика и др.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Развита подходы к прямому определению гидразинов. Разработаны основы применения методов ионной и ион-парной хроматографии для определения нового класса аналитов – гидразинов, а также некоторых продуктов трансформации НДМГ. Сформулированы требования к сорбентам и подвижным фазам. На основании установленных закономерностей удерживания, а также амперометрического и масс-спектрометрического детектирования выявлены рабочие условия разработки методик определения.

2. Предложены новые реагенты для предварительной дериватизации гидразинов – глиоксаль и его производные, характеризующиеся высокой карбонильной активностью и гидрофильностью. Выбраны условия экспрессного и количественного протекания реакции дериватизации, ведущей к образованию единственных и устойчивых продуктов – соответствующих *моно*-алкилгидразинов, обладающих интенсивным светопогло-

щением в области 275-305 нм ($\lg \varepsilon = 4,04-4,42$). Разработаны методики совместного определения НДМГ, метилгидразина (МГ) и 2-гидроксиэтилгидразина (ГЭГ) в виде производных с ГО и глиоксиловой кислотой в водных объектах (природных водах, отгонах и вытяжках из почв) методом обращенно-фазовой ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием (ОФ ВЭЖХ-УФ). Продолжительность хроматографического анализа при изократическом элюировании производных составляет 10 мин, а пределы обнаружения НДМГ, МГ и ГЭГ составляют 0,25-0,5 и 0,4-0,7 мкг/л при использовании ГО и глиоксиловой кислоты, соответственно, что в случае ГО позволяет проводить определение НДМГ в водах водоемов рыбохозяйственного назначения от установленного значения ПДК_{рх} (0,5 мкг/л) без использования предварительного концентрирования.

3. Разработан подход к определению Ги, МГ и НДМГ после дериватизации с нафталин-2,3-диальдегидом методом ОФ ВЭЖХ. Пределы обнаружения составляют 1 мкг/л для НДМГ и 0,05 мкг/л для Ги и МГ при спектрофотометрическом и флуориметрическом детектировании, соответственно. Методика определения гидразина аттестована и применяется для контроля содержания гидразина в природных водах в местах сброса очищенных вод Кольской атомной электростанции. Предложенная методика позволяет определять гидразин в природных водах от 1/3 ПДК_{рх} в отличие от других известных способов без применения дополнительного концентрирования.

4. Разработаны подходы к определению НДМГ на уровне 10^{-8} г/л методом жидкостной хроматографии. Изучен широкий круг дериватирующих реагентов для определения НДМГ методом реакционной ВЭЖХ-УФ. Обоснован выбор наиболее приемлемых реагентов по достигаемой чувствительности в условиях хроматографического определения. Реализованы различные варианты динамического сорбционного концентрирования и разработаны методики определения НДМГ в питьевых водах на уровне гигиенического норматива с предварительной дериватизацией 4-нитробензальдегидом и ГО в off-line режиме и 4-хлор-5,7-динитробензофуразаном при концентрировании on-line. В настоящее время это единственные достоверные методики определения НДМГ на столь низком уровне концентраций.

5. Проведена достоверная идентификация продуктов трансформации, основанная на применении жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Установлены новые продукты при трансформации НДМГ в водных растворах, водно-почвенных суспензиях и почвах – диметилгидразид муравьиной кислоты и 1,1-диметилгуанидин. Подтверждено образование диметиламина, 1-метил-1,2,4-триазола, метилгидразина, триметилгидразина, диметилгидразонов формальдегида и ацетальдегида, бис-диметилгидразона глиоксаля, 1,5,5-триметилформаза, НДМА и ТМТ при трансформации НДМГ в

водных растворах и водно-почвенных суспензиях. Установлены условия и базы данных (хроматографические параметры удерживания, спектральные характеристики) для идентификации продуктов трансформации.

6. Методами биотестирования изучена токсичность НДМГ и продуктов его трансформации ДМА, МТ, ДМГу, ТМТ, НДМА, ДМГМК. Показана меньшая токсичность продуктов трансформации, в частности, токсичность ДМГМК как минимум в 20 раз ниже, чем у НДМГ.

7. Разработан, аттестован и внедрен в практику аналитического контроля, в том числе в эколого-аналитических лабораториях Роскосмоса, комплекс методик определения НДМГ в объектах окружающей среды и биосредах. Внедрение предложенных методических решений позволило повысить селективность и правильность, а при анализе биосред и чувствительность определения, а также снизить трудоемкость выполнения анализа.

8. Изучено поведение НДМГ при его проливах на почву. Установлено изменение природы НДМГ. Показано, что свободный НДМГ трансформируется в активные продукты трансформации (вещества с фрагментом НДМГ) и НДМГ, связанный с органическим веществом почвы. Продемонстрировано, что даже при такой высокой нагрузке, как 240 г/кг, время трансформации, при котором концентрация свободного НДМГ падает ниже 2% от валового, составляет не более 10 суток.

9. Обоснована концепция применения вещественного анализа при определении форм НДМГ и предложена новая методология химического анализа почв при определении НДМГ.

10. На примере ДМГМК с учетом его значительного (до 50%) вклада в валовый концентрационный показатель показана необходимость учета активных продуктов трансформации при определении НДМГ. Меньшую токсичность следует принимать во внимание при разработке современных представлений о воздействии ракетно-космической деятельности на окружающую среду и санитарно-гигиеническом нормировании, а другие химические свойства - при разработке технологий детоксикации проливов ракетного топлива.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Smolenkov A., Pirogov A., Shpigun O. Separation of hydrazine and its methyl derivatives by ion chromatography with amperometric detection. // *Analyt. Sci.* 2001. V.17 SUPPLEMENT. P. i769-i772.
2. А.А. Денисов, А.Д. Смоленков, О.А. Шпигун. Определение 1,1-диметилгидразина методом ОФ ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием в виде производного с 4-нитробензальдегидом. // *Журн. аналит. химии.* 2004. Т. 59. № 5. С. 511-515.

3. Smolenkov A.D., Krechetov P.P., Pirogov A.V., Koroleva T.V., Bendryshev A.A., Shpigun O.A., Martynova M.M. Ion chromatography as a tool the investigation of unsymmetrical hydrazine degradation in soils. // Intern. J. Environ. Anal. Chem. 2005. V. 85. № 14. P. 1089-1100.
4. Смоленков А.Д., Родин И.А., Шпигун О.А. Определение 1,1-диметилгидразина методом нормально-фазовой ВЭЖХ. // Сорбц. хромат. процессы. 2006. Т. 6. Вып. 5. С. 787-795.
5. Родин И.А., Смоленков А.Д., Шпак А.В., Шпигун О.А. Ионохроматографическое определение констант ионного обмена алифатических гидразинов и аминов на сульфокатионообменниках на основе силикагеля. // Журн. физ. химии. 2007. Т. 81. № 3. С. 466-472.
6. Smolenkov A.D., Rodin I.A., Shpak A.V., Shpigun O. A. 1-Formyl-2,2-dimethylhydrazine as a new decomposition product of 1,1-dimethylhydrazine. // Intern. J. Environ. Anal. Chem. 2007. V. 87. № 5. P. 351-359.
7. Родин И.А., Москвин Д.Н., Смоленков А.Д., Шпигун О.А. Превращения несимметричного диметилгидразина в почвах. // Журн. физ. химии. 2008. Т. 82. № 6. С. 1039-1044.
8. Родин И.А., Ананьева И.А., Смоленков А.Д., Шпигун О.А. Определение продуктов окислительной трансформации несимметричного диметилгидразина в почвах методом жидкостной хроматографии. // Масс-спектрометрия. 2009. Т. 6. № 4. С. 302-306.
9. Пономаренко С.А., Смоленков А.Д., Шпигун О.А. Определение 1,1-диметилгидразина и продуктов его разложения методом ион-парной хроматографии. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2009. Т. 50. № 3. С. 185-192.
10. Пономаренко С.А., Смоленков А.Д., Ананьева И.А., Шпигун О.А. Сравнение возможностей методов ионообменной и ион-парной хроматографии при разделении смеси алифатических гидразинов, N-нитрозодиметиламина и тетраметил-2-тетразена. // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2009. Т. 75. № 1. С. 15-21.
11. Смоленков А.Д., Пономаренко С.А., Шпигун О.А. Закономерности удерживания 1,1-диметилгидразина и продуктов его разложения на силикагелях с привитыми алкильными группами в режиме ион-парной хроматографии. // Журн. физ. химии. 2009. Т. 83. № 3. С. 565-574.
12. Затираха А.В., Смоленков А.Д., Шпигун О.А. Ионохроматографическое определение 1,1-диметилгидразина с сорбционным on-line концентрированием. // Заводск. лаборатория. Диагностика материалов. 2009. Т. 75. № 4. С. 15-18.
13. Затираха А.В., Смоленков А.Д., Елфимова Я.А., Шпигун О.А. Высококчувствительное ионохроматографическое определение 1,1-диметилгидразина. // Сорбц. хромат. процессы. 2009. Т. 9. Вып. 4. С. 545-556.
14. Смирнов Р.С., Родин И.А., Смоленков А.Д., Шпигун О.А. Хромато-масс-спектрометрическое определение продуктов трансформации несимметричного диметилгидразина в почвах. // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 84. № 12. С. 1295-1301.
15. Смоленков А.Д., Шпигун О.А. Роль диметилгидразида муравьиной кислоты как продукта трансформации несимметричного диметилгидразина. // Материалы научно-практической конференции "Обеспечение экологической безопасности ракетно-космической деятельности"(18 мая 2011 г., Москва). М: Географический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, 2011. С. 90-95.
16. Касимов Н.С., Кондратьев А.Д., Королева Т.В., Кречетов П.П., Неронов В.В., Попик М.В., Смоленков А.Д., Фадеев А.В., Черницова О.В., Шпигун О.А. Экологический мониторинг ракетно-космической деятельности. Принципы и методы. / под ред. Н.С. Касимова, О.А. Шпигуна. М.: Рестарт, 2011. 469 с.

17. Смоленков А.Д., Смирнов Р.С., Родин И.А., Татаурова О.Г., Шпигун О.А. Влияние условий пробоподготовки на определение валовой концентрации несимметричного диметилгидразина в почвах. // Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67. № 1. С. 9-16.
18. Смоленков А.Д., Родин И.А., Шпигун О.А. Спектрофотометрические и флуориметрические методы определения гидразина и его метилированных аналогов (обзор). // Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67. № 2. С. 133-149.
19. Смоленков А.Д., Чернобровкина А.В., Смирнов Р.С., Шпигун О.А. Определение гидразина методом жидкостной хроматографии с предварительной дериватизацией 2,3-нафталиндальдегидом. // Журн. аналит. химии. 2012. Т. 67. № 4. С. 404-408.
20. Родин И.А., Смирнов Р.С., Смоленков А.Д., Кречетов П.П., Шпигун О.А. Трансформация несимметричного диметилгидразина в почвах. // Почвоведение. 2012. № 4. С. 439-444.
21. Смоленков А.Д. Хроматографические методы определения гидразина и его полярных производных. // Обзорный журнал по химии. 2012. Т. 2. № 4. С. 334-361.
22. Смоленков А.Д., Родин И.А., Смирнов Р.С., Татаурова О.Г., Шпигун О.А. Применение ионной и ион-парной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием для определения несимметричного диметилгидразина и продуктов его трансформации. // Вестн. Моск. Ун-та. Сер.2. Химия. 2012. Т. 53. № 5. С. 312-319.
23. Smolenkov A.D., Shpigun O.A. Direct liquid chromatographic determination of hydrazines: A review. // Talanta. 2012. V. 102. P. 93-100.
24. Smolenkov A.D., Chernobrovkina A.V., Smirnov R.S., Chernobrovkin M.G., Shpigun O.A. A sensitive chromatographic determination of hydrazines by naphthalene-2,3-dialdehyde derivatization. // Intern. J. Environ. Anal. Chem. 2013. V. 93. № 12. P. 1286-1295.
25. Смирнов Р.С., Смоленков А.Д., Болотник Т.А., Шпигун О.А. Применение глиоксаля и глиоксиловой кислоты для ВЭЖХ определения N- и N,N-замещенных алкилгидразинов. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2013. Т.54. №1. С.22-28.
26. Смирнов Р.С., Смоленков А.Д., Болотник Т.А., Шпигун О.А. Предколоночная дериватизация с глиоксалем как новый подход к высокочувствительному ВЭЖХ-УФ-определению несимметричного диметилгидразина. // Журн. аналит. химии. 2013. Т. 68. № 9. С. 923-930.
27. Смоленков А.Д., Попутникова Т.О., Смирнов Р.С., Родин И.А., Шпигун О.А. Сравнительная оценка токсичности несимметричного диметилгидразина и продуктов его трансформации методами биотестирования. // Теор. и прикл. экология. 2013. № 2. С. 63-68.

Патент

28. Родин И.А., Смоленков А.Д., Шпигун О.А., Попик М.В. Способ детоксикации несимметричного диметилгидразина в почве и грунте. Патент РФ на изобретение №2424020 от 20.07.2011.

Благодарности

Выражаю искреннюю благодарность и признательность своему научному консультанту, чл.-корр. РАН, проф. О.А. Шпигуну, за постоянный интерес к работе, ценные советы и замечания при подготовке диссертации. Также хочу поблагодарить своих непосредственных руководителей чл.-корр. РАН, проф. О.А. Шпигуна и к.ф.-м.н., в.н.с. М.В. Попика за созданные условия и возможность выполнения данной работы.

Благодарю своих бывших аспирантов и студентов И.А. Родина, С.А. Пономаренко, А.В. Чернобровкину, Р.С. Смирнова, Т.А. Болотника, принимавших активное участие в выполнении отдельных этапов данной работы.

Выражаю свою благодарность за консультации, полезные советы и содействие в выполнении работы при изучении поведения НДМГ в почвах к.б.н., доценту географического факультета МГУ П.П. Кречетову.