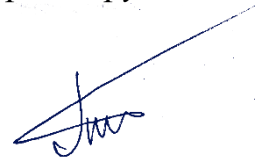


МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи



ТИМЧЕНКО ЮРИЙ ВАЛЕРЬЕВИЧ

**ОДНОВРЕМЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРАЗИНОВ МЕТОДОМ
РЕАКЦИОННОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ СО
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ И ТАНДЕМНЫМ МАСС-
СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ**

Специальность – 02.00.02 – Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2021

Работа выполнена на кафедре аналитической химии Химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

Научный руководитель

Смоленков Александр Дмитриевич

Доктор химических наук, доцент

Официальные оппоненты:

Рыбальченко Игорь Владимирович

Доктор химических наук, профессор

*27-ой Научный центр Минобороны РФ,
ведущий научный сотрудник*

Ульяновский Николай Валерьевич

Доктор химических наук

*Северный (Арктический) федеральный
университет имени М.В. Ломоносова, ведущий
научный сотрудник*

Вирюс Эдуард Даниэлевич

Доктор химических наук

*Научно-исследовательский институт общей
патологии и патофизиологии, ведущий научный
сотрудник*

Защита диссертации состоится «22» декабря 2021 года в 15 часов 00 минут на заседании диссертационного совета МГУ.02.05 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д.1, стр. 3, МГУ имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, аудитория 337.

E-mail: dissovet02.00.02@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д.27) и на сайте АИС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/407923733/>

Автореферат разослан «17» ноября 2021 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

кандидат химических наук

И.А. Ананьева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В связи с активным применением в различных сферах деятельности гидразина и его производных они могут быть обнаружены в объектах окружающей среды, пищевых продуктах, продукции химической и фармацевтической промышленности и др. В России и мире гидразины относят к классу высокотоксичных соединений, при этом с появлением новых данных о негативных эффектах воздействия гидразинов на живую природу существует тенденция к снижению установленных санитарно-гигиенические нормативов. Вследствие чего актуальной задачей является создание новых высокочувствительных подходов и методик, способных надежно определять гидразины в следовых количествах.

Подавляющее большинство известных на сегодняшний день методик посвящены определению гидразина с применением высокоселективных хроматографических методов, главным образом в варианте с доступным спектрофотометрическим детектированием (СФ), при этом определению алкилгидразинов уделяется меньше внимания. Дополнительно для повышения чувствительности определения используют методы концентрирования, такие как жидкостно-жидкостная и твердофазная экстракция, что увеличивает длительность пробоподготовки и может приводить к ошибкам определения. Перспективной альтернативой, к которой обратились в последнее время, является применение высокоселективного и высокочувствительного метода реакционной ВЭЖХ с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (МС/МС). Однако отсутствуют систематические исследования по выбору дериватизирующих реагентов, обеспечивающих получение производных с оптимальными для этого метода характеристиками, что затрудняет разработку новых высокочувствительных методик.

Цель работы

Разработка нового подхода к одновременному высокочувствительному определению гидразинов в водных объектах методом реакционной жидкостной хроматографии с одновременным спектрофотометрическим и tandemным масс-спектрометрическим детектированием.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Изучить влияние условий (тип и рН буферной системы, концентрация реагента, температура) и выявить закономерности протекания реакций дериватизации гидразина (Ги), метилгидразина (МГ) и несимметричного диметилгидразина (НДМГ) ароматическими альдегидами с различной природой и расположением функциональных групп.

2. Выбрать условия проведения дериватизации, в которых обеспечивается количественный выход дериватов для всех гидразинов.

3. Выбрать условия разделения и детектирования гидразинов в рамках методов обращенно-фазовой (ОФ) ВЭЖХ-СФ и ОФ ВЭЖХ-МС/МС.

4. Изучить влияние природы дериватирующего реагента и гидразина на чувствительность определения.

5. Разработать подход к одновременному определению Ги, МГ и НДМГ в водных объектах методами ОФ ВЭЖХ-СФ и ОФ ВЭЖХ-МС/МС.

Научная новизна

Предложены новые реагенты класса ароматических альдегидов для дериватизации гидразинов и последующего их определения методом ОФ ВЭЖХ со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием – 2-, 3-метоксибензальдегиды, 2-нафталинальдегид, 2-, 3-пиридинальдегиды и 2-хинолинальдегид.

Для получения производных гидразинов в мягких условиях и увеличения степени образования производного предложено использовать эффект иминного катализа в присутствии аминокатализатора. Установлены возможные аминокатализаторы и условия дериватизации гидразинов в водных растворах в их присутствии. Изучено влияние природы гидразина и реагента на скорость образования гидразонов в условиях иминного катализа.

Установлена и продемонстрирована нецелесообразность нагревания реакционных смесей, снижающего выход реакции образования гидразонов и чувствительность последующего определения.

Изучено влияние рН и состава подвижной фазы, природы неподвижной фазы на разделение гидразонов и условия их СФ- и МС-детектирования. Установлены закономерности влияния строения производных гидразинов на сигнал масс-селективного детектирования с электрораспылительной ионизацией.

Оценена потеря полезного сигнала при хроматографическом определении гидразонов, обусловленная нестереоселективностью реакций их получения.

Разработан подход к одновременному определению Ги, МГ и НДМГ, основанный на сочетании их дериватизации в мягких условиях азотсодержащими гетероциклическими реагентами с донорными заместителями в орто-положении в присутствии аминокатализатора и определении производных методом ОФ ВЭЖХ со спектрофотометрическим и tandemным масс-спектрометрическим детектированием в режиме электрораспылительной ионизации.

Практическая значимость

Найдены условия разделения и детектирования, а также метрологические характеристики для одновременного определения Ги, МГ и НДМГ в водах при использовании 12 дериватизирующих реагентов класса ароматических альдегидов.

Для одновременного определения гидразинов предложено использование глицинового буферного раствора с рН 8.5, обеспечивающего количественное протекание реакций дериватизации гидразинов с ароматическими альдегидами в мягких условиях (комнатная температура, время реакции – 10-45 мин). Для повышения устойчивости гидразонов в растворе предложено использование антиоксидантной добавки дитиотреитола.

Для повышения чувствительности ВЭЖХ-СФ определения гидразинов рекомендовано использовать бициклические дериватизирующие реагенты – 2-нафталинальдегид и 2-хинолинальдегид.

В качестве групповых реагентов для экспрессной дериватизации гидразинов предложено использование азотсодержащих гетероциклических реагентов с донорными заместителями в орто-положении, обеспечивающими автокатализ. Эти же реагенты, а также их бициклические аналоги, рекомендованы для увеличения чувствительности ВЭЖХ определения гидразинов с МС/МС-детектированием в условиях электрораспылительной ионизации.

Предложен простой высокочувствительный способ одновременного определения Ги, МГ и НДМГ в водных объектах в широком диапазоне концентраций 0.001-500, 0.007-1000 и 0.008-1000 мкг/л соответственно без концентрирования методом ОФ ВЭЖХ-СФ-МС/МС с предколоночной дериватизацией 2-хинолинальдегидом.

Положения, выносимые на защиту

1. Иминный катализ в условиях дериватизации гидразинов ароматическими альдегидами позволяет достигать количественного образования их производных в

мягких условиях, что обеспечивает снижение нижней границы определяемых содержаний до 1 нг/л и улучшение воспроизводимости методик определения методом ОФ ВЭЖХ-СФ-МС/МС.

2. Гетероциклические и реагенты с донорными заместителями в орто-положении проявляют высокую реакционную способность в реакции с гидразинами за счет внутримолекулярного автокатализа.

3. Бициклические дериватирующие реагенты, такие как 2-нафталиналдегид и 2-хинолинальдегид, обеспечивают более высокие коэффициенты поглощения производных с максимумами в длинноволновой области УФ-спектра, чем их моноциклические аналоги, и, как следствие, более низкие пределы обнаружения последующего ОФ ВЭЖХ-СФ анализа.

4. Применение антиоксиданта дитиотреитола в концентрации не менее 3 мМ при проведении дериватизации приводит к увеличению устойчивости гидразонов в водных растворах.

5. Максимумы зависимостей эффективности ионизации производных гидразинов с ароматическими альдегидами в условиях электрораспыления МС(МС/МС)-детектирования от рН подвижных фаз на основе солей аммония достигаются в слабощелочной области. Бициклические реагенты с донорными заместителями и азотсодержащими гетероциклами для дериватизации гидразинов обеспечивают высокую эффективность ионизации производных.

6. Подход к одновременному определению Ги, МГ и НДМГ, основанный на предколоночной дериватизации с ароматическими альдегидами, содержащими бициклические гетероциклы, такими как 2-хинолинальдегид, обеспечивает их экспрессное и высокочувствительное определения в водных объектах в широком диапазоне концентраций 0.001-500, 0.007-1000 и 0.008-1000 мкг/л соответственно без концентрирования методом ОФ ВЭЖХ-СФ-МС/МС. Время дериватизации составляет 30 мин при комнатной температуре, а время анализа – 20 мин.

Степень достоверности

Полученные в ходе работы результаты подтверждались статистически значимой воспроизводимостью и правильностью экспериментальных данных, большим объемом экспериментальной работы, необходимом для статистически достоверного подтверждения выводов работы, применением современных методик и средств обработки результатов экспериментов, а также метрологически поверенного оборудования.

Соответствие паспорту научной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 02.00.02 – Аналитическая химия по областям исследований:

- методы химического анализа (химические, физико-химические, атомная и молекулярная спектроскопия, хроматография, рентгеновская спектроскопия, масс-спектрометрия, ядерно-физические методы и др.);
- анализ объектов окружающей среды;
- теория и практика пробоотбора и пробоподготовки в аналитической химии.

Апробация результатов исследования

Основные результаты работы представлены на следующих конференциях:

2021 год: XXVIII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов 2021», Москва, Россия, 12 - 23 апреля 2021; VI Всероссийский Симпозиум «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием, Краснодар, Россия, 26 сентября - 2 октября 2021.

2020 год: IV Всероссийская Конференция с международным участием "Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез", Краснодар, Россия, 28 сентября - 2 октября 2020.

2019 год: XI Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «ЭКОАНАЛИТИКА-2019», Пермь, Россия, 27 мая - 1 июня 2019; Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2019», Москва, Россия, 8 - 12 апреля 2019.

Публикации

По материалам работы опубликовано 8 печатных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus, RSCI) и рекомендованных в диссертационном совете МГУ по специальности 02.00.02 – «Аналитическая химия», и 5 тезисов докладов на российских и международных конференциях.

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключался в поиске, систематизации и анализе данных литературы по теме работы, планировании, постановке и проведении экспериментов, обработке и интерпретации полученных результатов, а также в подготовке к публикации результатов проведенных исследований. Представленные результаты исследования получены лично автором или под его руководством.

Структура и объем работы

Работа имеет следующую структуру: введение, обзор литературы, экспериментальная часть, результаты и их обсуждение (представлены в трех главах), заключение, общие выводы, список использованных сокращений, список использованной литературы и приложение. Текст работы содержит 190 страниц, включая 17 рисунков, 20 схем и 16 таблиц. В списке литературы 301 наименование. Приложение включает 2 рисунка и 1 таблицу на 9 страницах.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение

Во введении изложен краткий обзор выбранной темы и поставлены цель и задачи исследования, раскрыта научная новизна работы и показана ее практическая значимость, публикации по теме исследования, степень ее апробации, структура и объем.

Обзор литературы

Первая глава представляет собой обзор литературы, в котором систематизированы данные о физико-химических свойствах гидразина и его производных, их токсичности, областях применения и основных методах определения.

В разделе «Применение гидразина и его производных. Физико-химические свойства. Токсичность» представлена информация о применении, физико-химических свойствах гидразина и его производных и современных нормативных требованиях к их содержанию в различных объектах в России и мире, описаны данные исследований о их токсичности и негативного воздействия на окружающую среду и живые организмы.

Раздел «Методы определения гидразинов» представлен в двух подразделах. В подразделе «Нехроматографические методы» обсуждается применение титриметрических, спектрофотометрических, флуориметрических и проточно-инжекционных методов для определения гидразинов. В подразделе «Хроматографические методы» рассмотрены основные способы определения гидразинов методами газовой и жидкостной хроматографии, проведена их систематизация. Особое внимание уделено современным подходам, основанным на применении предварительной дериватизации с последующим tandemным масс-спектрометрическим детектированием производных.

На основании обзора литературы сделаны выводы, которые подтверждают актуальность выбранной темы исследования.

Экспериментальная часть

Вторая глава включает описание используемых в работе химических реактивов, материалов и оборудования; условий и техники проведения экспериментов, а также происхождение образцов реальных водных объектов исследования.

В работе использовали следующее хроматографическое оборудование:

ВЭЖХ система «Agilent 1100», состоящая из двухканального градиентного насоса со смешением по высокому давлению, термостата колонок, дегазатора подвижной фазы, спектрофотометрического детектора на диодной матрице и охлаждаемого автоматического инжектора с дозирующим устройством для ввода пробы (от 0.1 до 100 мкл с шагом в 0.1 мкл) (Agilent Technologies, США). Для управления хроматографом и обработки данных применяли программное обеспечение ChemStation (Agilent Technologies, США).

Ионохроматографическая ВЭЖХ-система «Цвет-Яуза», состоящая из одноканального изократического насоса, ручного инжектора с петлей объемом 100 мкл и амперометрического детектора "Цвет-Яуза-01" (НПО «Химавтоматика», Россия). Для ручного ввода пробы в жидкостный хроматограф использовали медицинские трехкомпонентные шприцы с разъемом типа «Luer-Lock» объемом 1 мл («МИМ», Россия). Для управления хроматографом и обработки данных применяли программное обеспечение Экохром («КСЦ Хромос», Россия).

ВЭЖХ система Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, США), состоящая из двухканального градиентного насоса со смешением по высокому давлению, термостата колонок, дегазатора подвижной фазы, охлаждаемого автоматического инжектора с дозирующим устройством для ввода пробы (от 0.1 до 100 мкл с шагом в 0.1 мкл) и масс-спектрометра QTRAP 3200 (AB Sciex, Канада) с гибридной системой тройной квадруполь–линейная ионная ловушка, оснащенного источником электрораспылительной ионизации. Для сбора и обработки данных использовали программу Analyst v.1.5 (AB Sciex, Канада).

В работе использовали следующие хроматографические колонки: ZORBAX Extend 80 Å C18 (4.6 × 250 мм, 5 мкм), ZORBAX Eclipse XDB-C18 80 Å (4.6 × 150 мм, 5 мкм), ZORBAX Eclipse Plus C18 95 Å (3.0 × 150 мм, 3.5 мкм) и ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD 95 Å (3.0 × 50 мм, 1.8 мкм) (Agilent Technologies, США) с предколонками Security Guard (картридж C18, 4 × 3 мм, Phenomenex, США), Luna SCX (250 × 4.6 мм, 10 мкм) (Phenomenex, США).

Результаты и их обсуждение

Результаты и их обсуждение представлены в главах 3-5.

Третья глава («Исследование реакций дериватизации гидразинов с ароматическими альдегидами») посвящена выбору условий проведения реакции дериватизации Ги, МГ и НДМГ с 12-ю ароматическими альдегидами: бензальдегид (БА), 2-, 3-, 4-метоксибензальдегиды (2МБА, 3МБА и 4МБА), 2-, 3-, 4-нитробензальдегиды (2НБА, 3НБА и 4НБА), 2-нафталинальдегид (2НА), гетероциклические незамещенные 2-, 3-, 4-пиридинальдегиды (2ПА, 3ПА и 4ПА) и 2-хинолинальдегид (2ХА). Для изучения реакции дериватизации использовали метод ОФ ВЭЖХ-СФ.

Для разделения компонентов были опробованы четыре хроматографических колонки, заполненные гидрофобизированными силикагелями с привитыми октадецильными группами, разной длины (5-25 см), размера частиц (1.8-5.0 мкм), двойным эндкеппингом, устойчивые в широком диапазоне единиц pH (2.0-9.0) и использующиеся для разделения нейтральных, кислотных и основных соединений, в том числе продуктов дериватизации гидразинов – гидразонов. В качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила и 10 мМ раствора ацетата аммония с pH 7.0±0.1. Колонка ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD 95 Å (3.0 × 50 мм, 1.8 мкм) обеспечила лучшее разрешение пиков за счет наибольшей эффективности, отмечавшейся для пиков разделяемых гидразонов.

Для выбора оптимальной длины волны детектирования, а также оценки электронных эффектов функциональных групп в структуре образующихся производных изучали их электронные спектры поглощения в диапазоне длин волн от 200 до 400 нм (рис. 1).

Максимумы поглощения гидразонов лежат в диапазоне 250-400 нм, что благоприятно с точки зрения чувствительности и селективности определения. Показано, что, в целом, величина батохромного сдвига увеличивается в ряду производных $\Delta\lambda(\text{МГ}) \leq \Delta\lambda(\text{Ги}) < \Delta\lambda(\text{НДМГ})$, а коэффициенты поглощения в ряду $\varepsilon_{\text{отн}}(\text{НДМГ}) \leq \varepsilon_{\text{отн}}(\text{МГ}) \ll \varepsilon_{\text{отн}}(\text{Ги})$. Длины волн (λ_{max}) гидразонов в зависимости от природы используемого реагента увеличивались в ряду:

Ги: 2НБА < 3НБА < 4ПА < 3МБА < 3ПА ≈ БА ≈ 2ПА < 2НА ≈ 2ХА < 4МБА < 2МБА

МГ: 2НБА < БА ≈ 4МБА ≈ 3НБА ≈ 3МБА ≈ 3ПА < 2НА ≈ 2ПА < 4ПА ≈ 2ХА < 2МБА < 4НБА

НДМГ: 4МБА < БА < 3ПА ≈ 3МБА < 2НБА ≈ 3НБА < 2ПА ≈ 2НА < 2МБА ≈ 2ХА < 4ПА < 4НБА

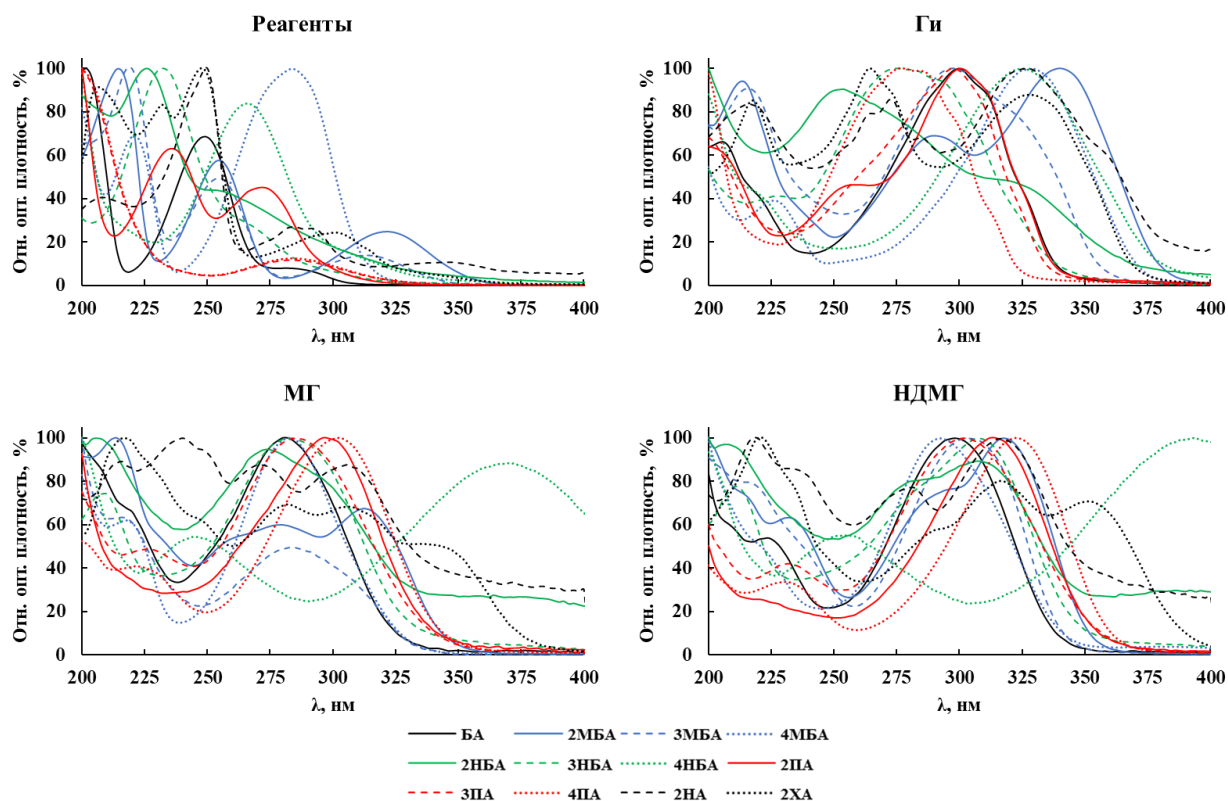


Рис. 1. Наложение нормированных экспериментальных электронных спектров поглощения исходных ароматических альдегидов и их гидразонов с Ги, МГ и НДМГ

На основании полученных зависимостей дана качественная оценка влияния природы и положения функциональных групп в карбонильных и гидразиновых компонентах в рамках рассмотрения электронных возмущений (мезомерные и индуктивные эффекты групп), резонансных структур и пространственных эффектов. Из соображений чувствительности для СФ-детектирования производных гидразинов рекомендованы к применению бициклические реагенты такие, как 2НА и 2ХА, обеспечивающие высокие коэффициенты поглощения с максимумами в длинноволновой области УФ-спектра.

Для СФ детектирования рассмотренных гидразонов были выбраны длины волн, соответствующие максимумам их поглощения при $\lambda > 250$ нм, при этом если в спектре имелось несколько таких максимумов, слабо различающихся по интенсивности, то из двух линий выбирали более длинноволновую. В табл. 1 представлены выбранные хроматографические условия определения производных, которые обеспечивают лучшее разделение компонентов за минимальное время в градиентном режиме элюирования, а также оптимальные параметры СФ-детектирования производных.

Таблица 1. Выбранные условия ОФ ВЭЖХ-СФ определения производных гидразинов

Реагент	λ (Ги/МГ/НДМГ), нм	Состав подвижной фазы, мин (% об. ацетонитрила)
БА	300/282/298	0-2 (25), 2-7 (25→80), 7-9 (80), 9-10 (80→25), 10-12 (25)
2МБА	341/282/318	0-4 (22), 4-7 (22→80), 7-9 (80), 9-10 (80→22), 10-13 (22)
3МБА	294/284/303	0-7 (20), 7-10 (20→80), 10-13 (80), 13-14 (80→20), 14-16 (20)
4МБА	330/283/292	0-10 (15), 10-13 (15→80), 13-15 (80), 15-16 (80→15), 16-17 (15)
2НБА	253/274/307	0-2 (40), 2-7 (40→80), 7-9 (80), 9-10 (80→40), 10-13 (40)
3НБА	274/283/308	0-2 (40), 2-7 (40→80), 7-9 (80), 9-10 (80→40), 10-13 (40)
4НБА	325/370/394	0-2 (40), 2-7 (40→80), 7-9 (80), 9-10 (80→40), 10-13 (40)
2ПА	300/297/313	0-1 (15), 1-2 (15→20), 2-4 (20), 4-9 (20→60), 9-10 (60→15), 11-15 (15)
3ПА	298/285/302	0-1 (15), 1-2 (15→20), 2-4 (20), 4-9 (20→60), 9-10 (60→15), 11-15 (15)
4ПА	276/304/322	0-1 (15), 1-2 (15→20), 2-4 (20), 4-9 (20→60), 9-10 (60→15), 11-15 (15)
2НА	326/294/316	0-9 (30), 9-14 (30→80), 14-18 (80), 18-19 (80→30), 19-24 (30)
2ХА	328/306/356	0-4 (22), 4-11 (22→80), 11-15 (80), 15-16 (80→22), 16-19 (22)

В рамках однофакторной оптимизации последовательно подбирали условия проведения реакции дериватизации, варьируя требуемый параметр (рН, концентрация реагента, температура реакции) при постоянных значениях других. Дериватизацию проводили непосредственно в хроматографических виалах из темного стекла. Выход продуктов дериватизации (ϕ) рассчитывали, как отношение площади пика гидразона или азина к площади пика этого же производного, полученной в конечных выбранных условиях.

Реакция образования гидразонов катализируется как кислотами, так и основаниями, и имеет сильно зависит от рН реакционной среды. Для выбора оптимального значения изучали зависимости (ϕ) от рН реакционной среды (рис. 2А). Результаты показали, что зависимости имеют два максимума выхода гидразонов в диапазонах рН 4-7 и 9-10, отвечающие реализации вариантов кислотного и основного катализа образования гидразонов соответственно. При этом скорости образования продуктов невысоки, и даже за 3 ч проведения реакции не достигаются количественные выходы производных. Особенно остро эта проблема стоит для менее реакционноспособных в этих условиях МГ и НДМГ, для которых выход производных составил менее 40%, что делает невозможным в этих условиях практическое применение данных реагентов в качестве групповых для определения гидразинов.

Для уменьшения продолжительности реакции дериватизации гидразинов в водных растворах предложили использовать эффект иминного катализа. Механизм катализа заключается в образовании ими́на (основания Шиффа) из амина и

карбонильного соединения как промежуточного соединения, скорость реакции гидразинов с которым выше, чем с исходным карбонильным соединением. Для получения гидразонов использовали такие потенциальные катализаторы, как аммиак (аммоний), метиламин (МА), диметиламин (ДМА), три(гидроксиметил)аминометан (Трис) и глицин. В ходе оценки эффективности данных катализаторов и изучения зависимости (ϕ) от pH реакционной среды установлено, что эффект иминного катализа проявляется для всех аминсоединений, а максимумы выхода дериватов находятся в слабощелочной области pH 7.5-10.5 (рис. 2Б-Е).

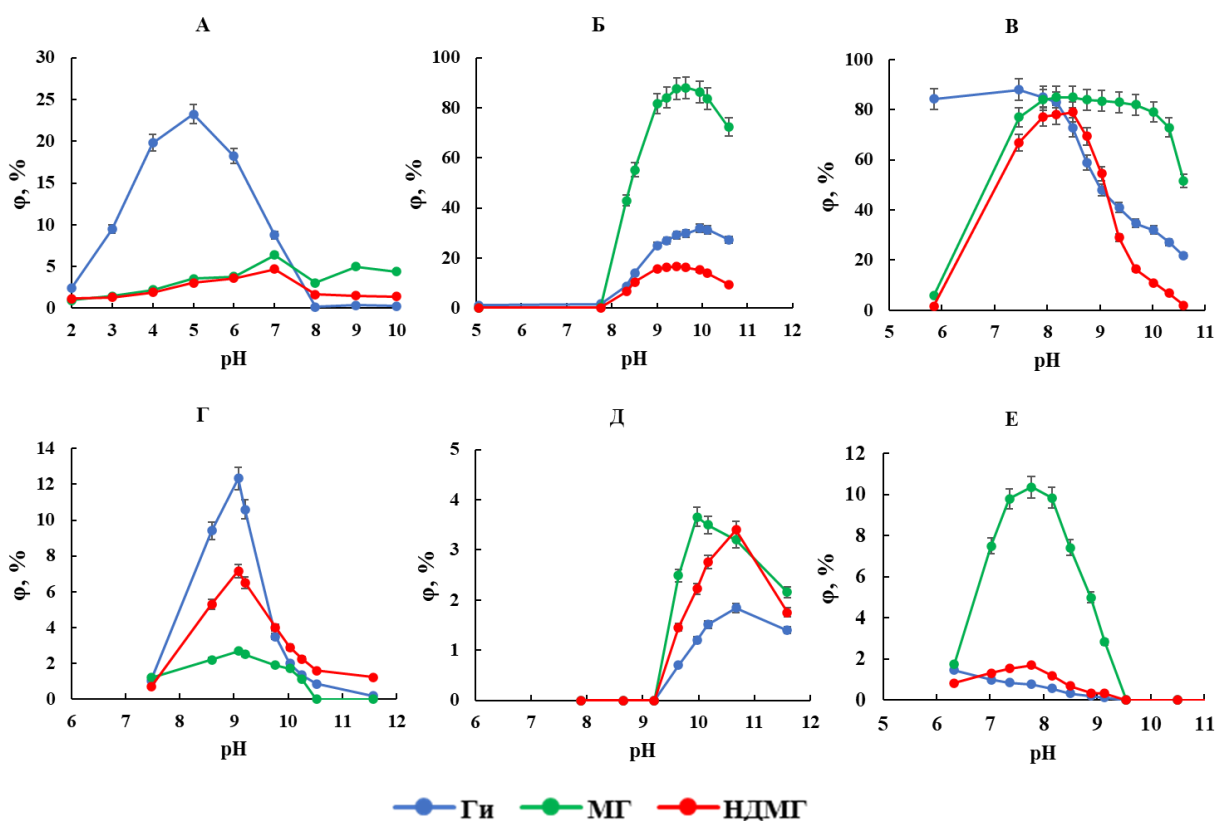


Рис. 2 Зависимость выхода БА-производных Ги, МГ и НДМГ (ϕ) от pH реакционной среды без (А) и с использованием иминных катализаторов (Б – NH_4^+ ; В – Глицин; Г – МА; Д – ДМА; Е – Трис). Время реакции при комнатной температуре: А – 30 мин, Б-Е – 5 мин ($n = 3$, $P = 0.95$)

Применение МА, ДМА и Трис оказало слабый каталитический эффект, при этом в присутствии аммония и глицина наблюдали значительное ускорение реакции образования гидразонов. NH_4^+ -катализ значительно ускорил образование БА-производных Ги, МГ и НДМГ примерно в 15, 150 и 40 раз соответственно (выходы БА-производных Ги, МГ и НДМГ без катализа за 5 мин реакции – 2.0, 0.6 и 0.4% соответственно). Применение глицина обеспечивает равномерное увеличение выхода для всех исследованных гидразинов до 75-85% в области pH 8-8.5 всего за 5 мин реакции при комнатной температуре. При концентрации глицина 0.56 М наблюдали

максимумы выхода всех производных, поэтому для проведения одновременной дериватизации гидразинов в их совместном присутствии была выбрана такая добавка буферного раствора на его основе с pH 8.5 (ГБР), которая обеспечивает эту концентрацию катализатора в реакционной смеси.

Получали зависимости Φ от концентрации реагента и выбирали такую концентрацию каждого реагента, при которой достигается максимальный выход одновременно для всех гидразинов. Зависимости скорости (r) образования гидразонов от природы реагента выглядят следующим образом:

Ги: 2НБА < 4ПА < 2ПА $\approx$ 3ПА < 3НБА < 2ХА $\approx$ 3МБА < БА < 4МБА < 2НА < 2МБА

МГ: 2НБА < 4ПА < 3НБА $\approx$ 4МБА < 4НБА < 3ПА < 3МБА $\approx$ 2МБА < 2ХА $\approx$ 2НА $\approx$ БА $\approx$ 2ПА

НДМГ: 2НБА < 4МБА < 4ПА < 3НБА $\approx$ 4НБА < 3ПА < 3МБА $\approx$ 2НА < БА < 2ХА < 2ПА < 2МБА

На основании полученных зависимостей рекомендовано использование гетероциклических реагентов или реагентов с донорными заместителями в орто-положении, обеспечивающие автокатализ дегидратации промежуточных гидразинокарбинолов (рис. 3).

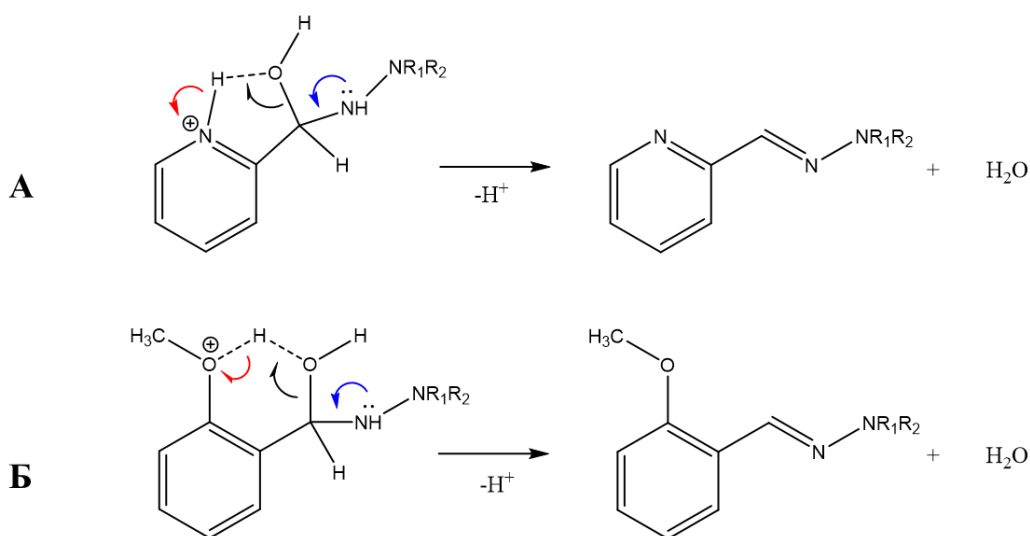


Рис. 3. Механизм автокатализа дегидратации гидразинокарбинолов 2ПА (А) и 2МБА (Б)

В работе было установлено, что даже в модельных растворах и без доступа света содержание некоторых гидразонов значительно уменьшалось в течении нескольких часов. Для предотвращения протекания таких нежелательных процессов предложено использовать добавку 3 мМ дитиотреитола (ДТТ) в качестве консерванта, значительно повышающего стабильность гидразонов этих условиях. Так, концентрация БА-Ги без ДТТ за 2 ч уменьшалась примерно на 25%, но с добавкой 3 мМ ДТТ ее уменьшение через 24 ч составило не более 5%, а через 48 ч – не более 10%.

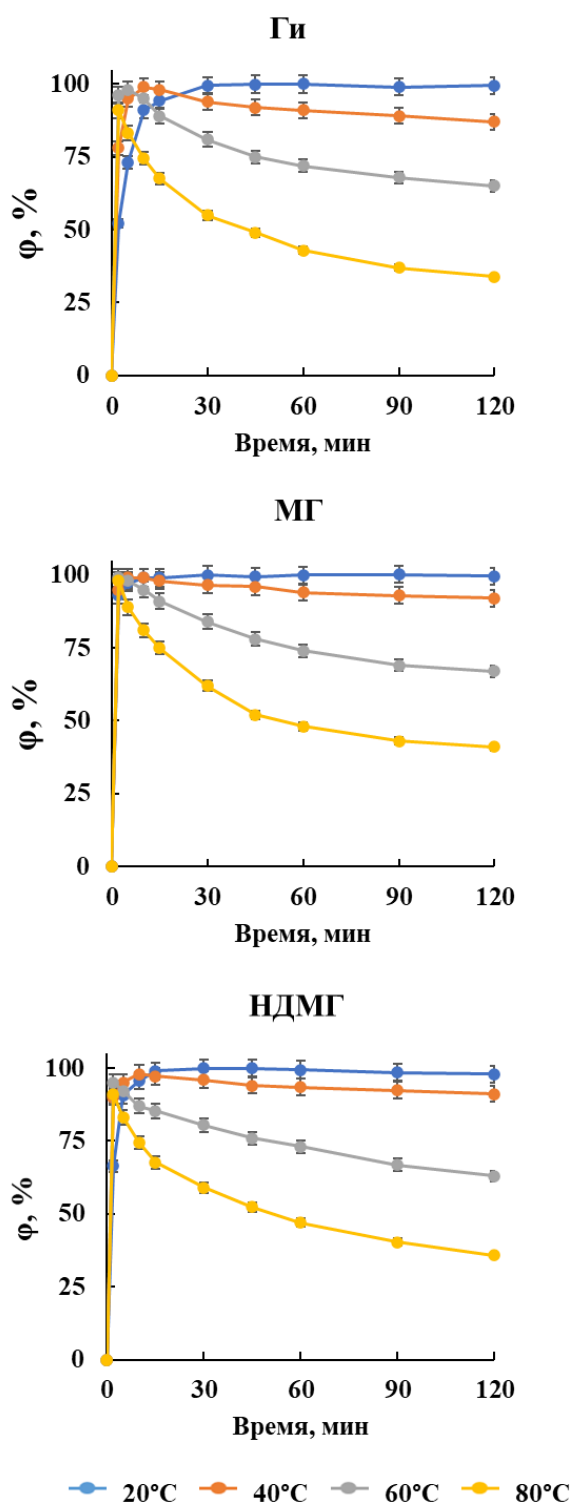


Рис. 4. Зависимости выхода производных Ги, МГ и НДМГ с 2ХА (ϕ) от температуры ($n = 3$, $P = 0.95$). рН 8.5; $C(\text{ГРБ}) = 0.56 \text{ мМ}$; $C(2\text{ХА}) = 1.6 \text{ мМ}$; $C(\text{ДТТ}) = 3 \text{ мМ}$

факты говорят о том, что повышение температуры – это негативный фактор в реакции получения гидразонов. По этой причине комнатная температура была выбрана как оптимальная для проведения дериватизации. Время, соответствующее точке выхода

Нагревание (до 100°C) реакционных смесей без иминного катализа часто используют, чтобы добиться более высоких выходов гидразонов, а также сократить время реакции. Для изучения влияния температуры на выходы продуктов дериватизации Ги, МГ и НДМГ с 12-ю реагентами получали зависимости выхода гидразонов в присутствии ДТТ при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), 40, 60 и 80°C за 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 и 120 мин времени реакции. На рис. 4 на примере БА-производных представлены типичные зависимости, полученные для всех использованных реагентов.

Реакция ожидаемо протекает быстрее при повышенных температурах, однако, термическое воздействие приводит к значительному уменьшению выхода гидразонов, что, связано как со смещением равновесия в сторону исходных веществ, так и с разрушением гидразонов и/или исходных веществ в результате ускорения побочных процессов в реакционной смеси, вероятно, окислительно-восстановительной природы. При этом для некоторых производных наблюдалось значимое уменьшение концентрации при комнатной температуре даже в присутствии ДТТ. Эти

Таблица 2. Выбранные условия проведения дериватизации гидразинов с ароматическими альдегидами. pH 8.5, C(ГБР) = 0.56 М, C(ДТГ) = 3 мМ, температура реакции – комнатная (20 ± 2°C)

Реагент	Концентрация реагента, мМ	Время реакции, мин
БА	3.3	5
2МБА	0.8	10
3МБА	3.3	15
4МБА	3.3	30
2НБА	6.4	45
3НБА	6.4	30
4НБА	1.6	45
2ПА	13.1	10
3ПА	13.1	15
4ПА	13.1	10
2НА	1.6	30
2ХА	1.6	30

кривой на «плато» (выход деривата >99%), было выбрано в качестве оптимального (табл. 2).

Для подтверждения количественного протекания реакции дериватизации в выбранных условиях проводили ионохроматографический анализ реакционных смесей (рис. 5). Концентрация свободных форм гидразинов оказалась ниже предела обнаружения (1, 2.5 и 5 мкг/л для Ги, МГ и НДМГ соответственно), что говорит о том, что в выбранных условиях реакция образования гидразона протекает количественно для каждого аналита (выход продукта >99%).

Поскольку реакция образования гидразонов полностью обратима, возможен их гидролиз и разрушение на колонке из-за разной скорости движения гидразина и альдегида в условиях ОФ ВЭЖХ анализа. Реакция гидролиза гидразонов может ускоряться в присутствии кислот в подвижной фазе. Поэтому изучали влияние pH подвижной фазы в диапазоне 3-9 на их стабильность по площади пика. Обнаружено, что при pH < 7 происходит снижение удерживания, искажение формы хроматографического пика (уширение и хвостование), уменьшение площади пика для гетероциклических производных Ги, МГ и НДМГ, по причине их меньшей устойчивости в этой области pH. В случае негетероциклических аналогов влияние pH не было обнаружено. Таким образом,

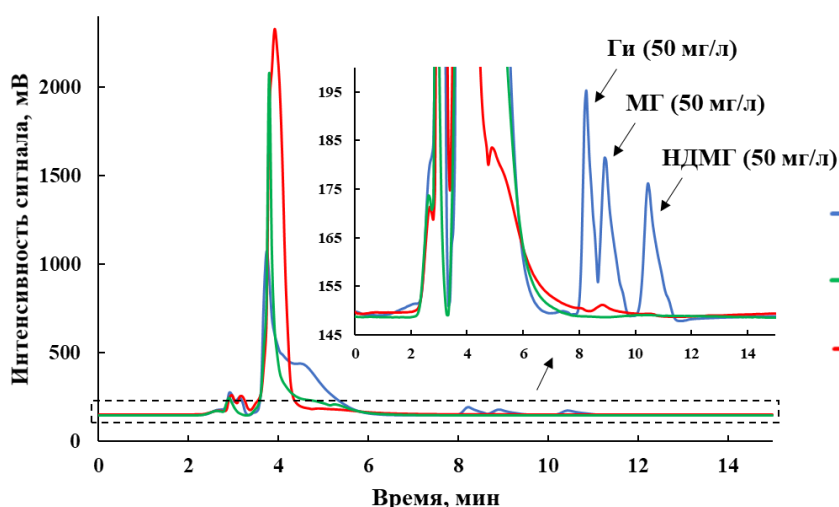


Рис. 5. Наложение экспериментальных хроматограмм градуировочного раствора гидразинов (по 50 мкг/л) (1), холостой пробы с добавлением БА (2) и реакционной смеси Ги, МГ и НДМГ (по 1000 мкг/л) (3) с БА.

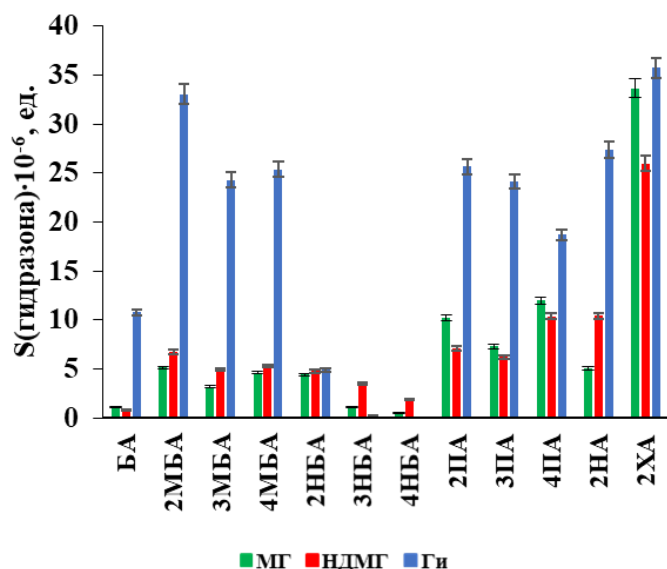


Рис. 6. Зависимости площадей пиков гидразонов в режиме выделенных ионов от применяемого ароматического альдегида. Концентрации гидразинов – 100 мкг/л ($n = 3$, $P = 0.95$)

применяемого реагента на эффективность ионизации гидразонов провели сравнение площадей их пиков, полученных в аналогичных условиях по иону-предшественнику (рис. 6). Обнаружено, что наличие акцепторных заместителей значительно снижает эффективность ионизации, которая уменьшается в ряду $2НБА > 3НБА > 4НБА$, в то время как наличие донорных $СН_3О$ -групп напротив способствует ионизации, которая увеличивается в ряду $3МБА < 4МБА < 2МБА$. Введение в ароматическую систему атома азота, способного к дополнительному протонированию, в зависимости от природы карбонильной и гидразиновой компоненты увеличивает эффективность ионизации до 15 раз по сравнению с негетероциклическими аналогами. В целом, наблюдается общая закономерность увеличения ионизации с ростом m/z , поэтому азины, как правило, лучше ионизируются, чем соответствующие алкилгидразоны в аналогичных условиях. Отмечена, перспективность использования реагентов с донорными заместителями и азотсодержащих гетероциклических реагентов для дериватизации гидразинов с целью увеличения чувствительности ВЭЖХ-МС/МС определения.

Для выбора оптимального потенциала декластеризации (ПД) получали зависимости площадей пиков соответствующих гидразонов по иону-предшественнику от приложенного ПД в диапазоне 10-100 В. Значения ПД соответствующие максимуму площади пика были выбраны как оптимальные (табл. 3).

рекомендовано проводить разделение гетероциклических производных при pH (подвижной фазы) ≥ 7 , а для негетероциклических аналогов при любом pH диапазона 3-9.

Четвертая глава («Выбор условий масс-спектрометрического детектирования») посвящена выбору условий масс-спектрометрического детектирования производных Ги, МГ и НДМГ с 12-ю использованными реагентами.

Для оценки влияния природы

Таблица 3. Выбранные условия МС/МС детектирования

Реагент	Гидразин	Время сегмента, мин	ПД, В	M ^a , m/z	M ₁ ^б (CE, В), m/z	M ₂ ^в (CE, В), m/z	S _{M1} /S _{M2} ^г (n = 3, P = 0.95)
БА	Ги	7-12	35	209.2	106.2 (20)	77.2 (45)	1.0±0.2
	МГ	0-5.5	20	135.2	77.2 (25)	104.2 (15)	1.8±0.5
	НДМГ	5.5-7	30	149.2	106.2 (10)	79.2 (20)	2.9±0.7
2МБА	Ги	8.5-13	50	269.4	107.2 (30)	77.2 (60)	1.0±0.2
	МГ	0-7.2	35	165.2	91.2 (30)	121.2 (20)	1.0±0.2
	НДМГ	7.2-8.5	30	179.2	121.2 (20)	136.2 (20)	1.0±0.1
3МБА	Ги	11.5-15	50	269.4	136.2 (20)	109.2 (30)	1.4±0.1
	МГ	0-10	30	165.2	107.2 (45)	134.2 (20)	1.2±0.2
	НДМГ	10-11.5	35	179.2	136.2 (15)	109.2 (20)	2.6±0.1
4МБА	Ги	14.5-19	55	269.4	134.2 (20)	92.2 (55)	3.2±0.1
	МГ	0-13.5	35	165.2	121.2 (20)	77.2 (35)	1.4±0.2
	НДМГ	13.5-14.5	30	179.2	134.2 (20)	77.2 (35)	1.47±0.07
2НБА	Ги	6.5-13	55	299.2	78.2 (35)	151.2 (20)	1.1±0.2
	МГ	0-4	25	180.2	78.2 (20)	92.2 (10)	1.4±0.4
	НДМГ	4-6.5	30	194.2	151.2 (15)	105.2 (20)	1.4±0.3
3НБА	Ги	6.5-13	50	299.2	105.2 (35)	151.2 (25)	1.3±0.2
	МГ	0-4	40	180.2	134.2 (20)	105.2 (20)	2.2±0.3
	НДМГ	4-6.5	35	194.2	151.2 (15)	105.2 (25)	1.0±0.1
4НБА	Ги	–	–	–	–	–	–
	МГ	0-4	35	180.2	134.2 (20)	92.2 (35)	4.3±0.5
	НДМГ	4-13	25	194.2	105.2 (25)	151.2 (10)	1.2±0.2
2ПА	Ги	7-15	30	211.4	183.2 (10)	79.2 (45)	1.59±0.08
	МГ	0-5	35	136.2	93.2 (20)	105.2 (20)	1.5±0.1
	НДМГ	5-7	30	150.2	107.2 (20)	79.2 (40)	2.9±0.1
3ПА	Ги	6.3-15	45	211.4	79.2 (40)	106.2 (20)	2.73±0.09
	МГ	0-4	35	136.2	79.2 (35)	105.2 (20)	1.4±0.1
	НДМГ	4-6.3	35	150.2	79.2 (35)	105.2 (20)	1.38±0.05
4ПА	Ги	4-15	35	211.4	79.2 (40)	106.2 (20)	3.2±0.1
	МГ	0-4	35	136.2	79.2 (35)	105.2 (20)	1.49±0.09
	НДМГ	4-15	35	150.2	79.2 (35)	105.2 (25)	1.5±0.1
2НА	Ги	16-24	55	309.5	127.2 (50)	156.2 (30)	1.25±0.05
	МГ	0-14	35	185.2	127.2 (30)	154.2 (20)	1.82±0.08
	НДМГ	14-16	35	199.3	156.2 (20)	129.2 (25)	1.30±0.03
2ХА	Ги	12-20	35	311.5	283.3 (15)	129.2 (50)	2.9±0.1
	МГ	0-9.8	40	186.2	129.2 (35)	143.2 (20)	1.32±0.05
	НДМГ	9.8-12	45	200.3	157.2 (20)	129.2 (40)	1.28±0.05

^a ион-предшественник; ^б ион-продукт для количественного анализа; ^в ион-продукт для качественного анализа; ^г диагностическое соотношение

Для оценки влияния рН подвижной фазы на эффективность ионизации гидразонов на примере производных БА, 2НА, 2ПА и 2ХА проводили сравнение площадей их пиков в режиме выделенных ионов (рис. 7).

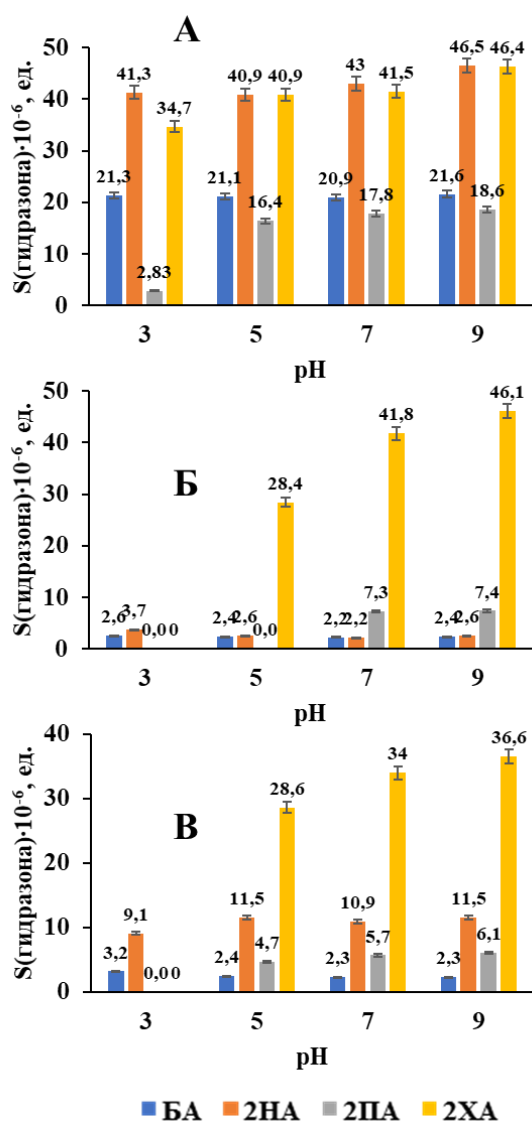


Рис. 7. Зависимость площадей пиков гидразинов БА, 2НА, 2ПА и 2ХА от рН подвижной фазы. Концентрации гидразинов (А – Ги; Б – МГ; В – НДМГ) – 100 мкг/л ($n = 3$, $P = 0.95$)

Все исследованные производные демонстрируют лучшую эффективность ионизации при рН 9 подвижной фазы, поэтому все последующие этапы работы проводили с использованием подвижных фаз с этим рН.

Для выбора характеристичных переходов в режиме мониторинга множественных реакций изучали спектры соударений в режиме МС/МС-детектирования. Пара наиболее интенсивных переходов была выбрана для количественного и качественного анализа. Для подтверждения идентификации и отсутствия коэлюирования веществ могут быть использованы диагностические соотношения, рассчитанные как отношения площадей пиков аналита для этих переходов (табл. 3).

Пятая глава («Разработка и апробация подхода к одновременному определению гидразинов в природных и питьевых водах») посвящена разработке и апробации подхода к одновременному

определению гидразинов в водных объектах двумя методами ОФ ВЭЖХ-СФ и ОФ ВЭЖХ-МС/МС с применением дериватизирующих реагентов из класса ароматических альдегидов.

При разработке подхода к одновременному определению гидразинов было отмечено появление на хроматограммах реакционных смесей минорных пиков компонентов, отсутствующих в холостых пробах, и для которых характерны те же ММР-переходы, что и для основных пиков. В результате нестереоизбирательности реакций гидразинов с альдегидами происходит расщепление полезного аналитического сигнала. Оценка соотношений геометрических изомеров показала, что для большинства производных доли минорных составляющих невелики (7% и менее).

Для оценки метрологических характеристик предложенных способов определения с 12-ю дериватизирующими реагентами проводили анализ образцов вод с известной добавкой гидразинов. Для одновременного определения гидразинов в питьевой воде использовали метод ОФ ВЭЖХ-СФ, а в природной - ОФ ВЭЖХ-МС/МС. Правильность предложенных способов подтверждали методом «введено–найдено» на двух уровнях концентрации. В табл. 4 приведены характеристики хроматографического определения гидразинов с различными реагентами. Как можно заметить, соответствующие ЛДОК для СФ и МС/МС вариантов детектирования пересекаются для одного и того же реагента. Поскольку большинство современных приборов для ВЭЖХ-МС/МС анализа, как правило, оснащено блоком СФ детектора, это позволяет расширить ЛДОК.

Результаты, показывают, что для NO_2 -производных почти нет выигрыша в чувствительности при использовании МС/МС-детектирования по сравнению с более доступным вариантом использования СФ детектора из-за низкой эффективности ионизации. Стандартное отклонение результатов параллельных измерений не превышает 6% даже на уровне низких концентраций, за исключением случаев низкой стабильности производных. Заметно более высокую чувствительность также обеспечивает применение бициклических и гетероциклических ароматических альдегидов.

На основании обобщения представленных результатов предложен подход к одновременному определению Ги, МГ и НДМГ, основанный на дериватизации ароматическим альдегидом, содержащим бициклический гетероцикл, и применении иминного катализа с последующим определением дериватов методом ОФ ВЭЖХ-СФ-МС/МС. Использование 2ХА для дериватизации позволяет определять Ги, МГ и НДМГ в водных объектах в широком диапазоне концентраций: 0.001-500, 0.007-1000 и 0.008-1000 мкг/л соответственно. Данный вариант является одним из самых чувствительных и позволяет достигать нижней границы определяемых концентраций гидразинов в водах меньше уровней ОДУ (рис. 8).

Таблица 4. Характеристики определения Ги, МГ и НДМГ в питьевой и природной водах методом ОФ ВЭЖХ с предварительной дериватизацией ароматическими альдегидами (n = 3, P = 0.95)

Реагент	Детектор	Гидразин	Уравнение $S = (a \pm \Delta a) \cdot C$	R ²	C _{min} , мкг/л	C _n , мкг/л	ЛДОК, мкг/л	Введено, мкл/л	Найдено, мкг/л	s _r , %
БА	СФ	Ги	(6.7±0.2)·C	0.9989	0.3	1.0	1-500	1/125	(0.97±0.09)/(127±6)	3.9/1.9
		МГ	(1.97±0.07)·C	0.9983	2	6.8	7-1000	7/250	(6.4±0.9)/(252±19)	5.9/3.0
		НДМГ	(1.84±0.04)·C	0.9991	1.3	4.2	5-1000	5/250	(5.1±0.5)/(247±14)	3.8/2.2
	МС/МС	Ги	(20715±748)·C	0.9993	0.005	0.015	0.015-40	0.015/10	(0.016±0.002)/(10.3±0.6)	5.4/2.3
		МГ	(1255±74)·C	0.9982	0.11	0.36	0.5-1000	0.5/250	(0.49±0.06)/(254±18)	5.1/2.9
		НДМГ	(459±27)·C	0.9981	0.12	0.41	0.5-1000	0.5/250	(0.50±0.05)/(250±16)	4.4/2.6
2МБА	СФ	Ги	(5.0±0.1)·C	0.9991	0.3	1.0	1-500	1/125	(1.0±0.1)/(123±9)	4.1/2.9
		МГ	(1.55±0.05)·C	0.9985	1.5	5.0	5-1000	5/250	(4.8±0.5)/(249±17)	4.0/2.8
		НДМГ	(1.54±0.04)·C	0.9990	1.2	4.1	5-1000	4/250	(3.9±0.4)/(252±17)	4.4/2.8
	МС/МС	Ги	(125558±5277)·C	0.9991	0.0013	0.0044	0.005-8	0.005/2	(0.0050±0.0007)/(2.1±0.1)	5.3/2.8
		МГ	(7137±312)·C	0.9991	0.03	0.090	0.1-120	0.1/30	(0.10±0.01)/(30±2)	3.9/2.3
		НДМГ	(3072±117)·C	0.9992	0.04	0.14	0.15-250	0.15/75	(0.15±0.01)/(74±4)	4.1/2.3
3МБА	СФ	Ги	(6.0±0.1)·C	0.9994	0.4	1.4	1-500	1.5/125	(1.4±0.1)/(124±7)	4.1/2.3
		МГ	(2.14±0.09)·C	0.9978	2	7.5	8-1000	8/250	(7.9±0.9)/(245±17)	4.7/2.9
		НДМГ	(1.84±0.05)·C	0.9991	1.1	3.1	3-1000	3/250	(2.9±0.3)/(252±16)	3.9/2.6
	МС/МС	Ги	(80765±3461)·C	0.9990	0.0010	0.0033	0.004-10	0.004/2.5	(0.0042±0.0005)/(2.5±0.1)	4.9/2.3
		МГ	(2187±97)·C	0.9990	0.05	0.18	0.2-500	0.2/125	(0.20±0.02)/(126±7)	5.0/2.3
		НДМГ	(5190±200)·C	0.9992	0.02	0.073	0.08-160	0.08/40	(0.079±0.008)/(40±2)	4.3/2.5
4МБА	СФ	Ги	(8.9±0.2)·C	0.9994	0.15	0.50	0.5-500	0.5/125	(0.47±0.05)/(124±6)	4.6/1.9
		МГ	(2.7±0.1)·C	0.9982	1.5	4.9	5-1000	5/250	(5.1±0.5)/(250±16)	4.0/2.6
		НДМГ	(1.89±0.05)·C	0.9990	0.7	2.5	2.5-1000	2.5/250	(2.7±0.3)/(248±23)	4.3/3.7
	МС/МС	Ги	(183160±7417)·C	0.9991	0.0009	0.003	0.003-5	0.003/1.25	(0.0029±0.0004)/(1.24±0.08)	5.1/2.8
		МГ	(3437±142)·C	0.9992	0.05	0.171	0.2-250	0.2/75	(0.20±0.02)/(74±5)	4.1/2.8
		НДМГ	(3407±162)·C	0.9988	0.03	0.10	0.1-250	0.1/75	(0.10±0.01)/(75±6)	4.5/3.0
2НБА	СФ	Ги	(4.9±0.1)·C	0.9994	0.6	1.9	2-500	2/125	(2.0±0.2)/(124±7)	3.6/2.2
		МГ	(1.92±0.07)·C	0.9984	2	8.1	8-1000	8/250	(8.0±0.8)/(251±21)	4.2/3.4
		НДМГ	(1.33±0.03)·C	0.9993	2	6.9	7-1000	7/250	(7.0±0.5)/(252±10)	3.1/1.6
	МС/МС	Ги	(7940±372)·C	0.9989	0.015	0.049	0.05-100	0.05/25	(0.050±0.005)/(25±2)	3.8/2.6
		МГ	(812±47)·C	0.9983	0.07	0.23	0.25-1000	0.25/250	(0.25±0.03)/(247±21)	4.9/3.4
		НДМГ	(384±16)·C	0.9991	0.2	0.68	0.7-1000	0.7/250	(0.70±0.07)/(251±16)	3.8/2.6
3НБА	СФ	Ги	(7.2±0.2)·C	0.9991	0.3	1.1	2-500	1/125	(0.99±0.08)/(127±7)	3.5/2.1
		МГ	(2.92±0.09)·C	0.9989	1.5	4.9	5-1000	5/250	(5.2±0.6)/(252±14)	4.3/2.3
		НДМГ	(2.02±0.05)·C	0.9993	1.7	5.7	6-1000	6/250	(6.0±0.4)/(255±12)	2.5/1.9
	МС/МС	Ги	(864±53)·C	0.9981	0.11	0.35	0.4-1000	0.4/250	(0.04±0.04)/(250±14)	3.9/2.3
		МГ	(289±22)·C	0.9969	0.4	1.33	1.5-1000	1.5/250	(1.5±0.2)/(252±18)	5.2/2.8
		НДМГ	(453±26)·C	0.9983	0.17	0.58	0.6-1000	0.6/250	(0.6±0.06)/(251±17)	3.7/2.7

Таблица 4 (продолжение). Характеристики определения Ги, МГ и НДМГ в питьевой и природной водах методом ОФ ВЭЖХ с предварительной дериватизацией ароматическими альдегидами (n = 3, P = 0.95)

Реагент	Детектор	Гидразин	Уравнение $S = (a \pm \Delta a) \cdot C$	R^2	C_{min} , мкг/л	C_n , мкг/л	ЛДОК, мкг/л	Введено, мкл/л	Найдено, мкг/л	s_r , %
4НБА	СФ	Ги	$(7.7 \pm 0.2) \cdot C$	0.9989	0.6	1.8	2-500	2/125	$(2.0 \pm 0.2)/(128 \pm 8)$	4.3/2.5
		МГ	$(2.05 \pm 0.08) \cdot C$	0.9981	2	7.1	7-1000	7/250	$(7.2 \pm 0.6)/(249 \pm 14)$	3.5/2.3
		НДМГ	$(1.68 \pm 0.04) \cdot C$	0.9994	1.7	5.6	6-1000	6/250	$(6.1 \pm 0.5)/(246 \pm 12)$	3.2/1.9
	МС/МС	Ги	—	—	—	—	—	—	—	—
		МГ	$(245 \pm 11) \cdot C$	0.9989	0.8	2.48	2.5-1000	2.5/250	$(2.5 \pm 0.2)/(252 \pm 16)$	3.3/2.6
		НДМГ	$(293 \pm 12) \cdot C$	0.9992	0.3	0.95	1-1000	1/250	$(1.02 \pm 0.09)/(251 \pm 14)$	3.7/2.3
2ПА	СФ	Ги	$(5.0 \pm 0.1) \cdot C$	0.9990	0.6	2.0	2-500	2/125	$(2.1 \pm 0.2)/(124 \pm 7)$	3.5/2.2
		МГ	$(2.31 \pm 0.07) \cdot C$	0.9989	1.7	5.6	6-1000	6/250	$(6.3 \pm 0.6)/(253 \pm 13)$	4.1/2.1
		НДМГ	$(2.11 \pm 0.05) \cdot C$	0.9993	1.5	4.9	5-1000	5/250	$(5.1 \pm 0.4)/(257 \pm 11)$	3.3/1.7
	МС/МС	Ги	$(10821 \pm 445) \cdot C$	0.9991	0.0014	0.0047	0.005-4	0.005/1	$(0.0051 \pm 0.0007)/(1.00 \pm 0.06)$	5.6/2.3
		МГ	$(4480 \pm 180) \cdot C$	0.9992	0.09	0.29	0.3-280	0.3/70	$(0.30 \pm 0.02)/(70 \pm 3)$	3.3/1.9
		НДМГ	$(2411 \pm 103) \cdot C$	0.9991	0.05	0.15	0.15-500	0.15/125	$(0.15 \pm 0.02)/(126 \pm 7)$	4.8/2.2
3ПА	СФ	Ги	$(6.2 \pm 0.1) \cdot C$	0.9994	0.4	1.5	1.5-500	1.5/125	$(1.5 \pm 0.1)/(126 \pm 6)$	3.3/2.0
		МГ	$(1.96 \pm 0.08) \cdot C$	0.9979	2	6.7	7-1000	7/250	$(7.3 \pm 0.8)/(255 \pm 19)$	4.7/3.0
		НДМГ	$(1.57 \pm 0.04) \cdot C$	0.9990	1.8	6.0	6-1000	6/250	$(6.3 \pm 0.5)/(247 \pm 10)$	3.1/1.6
	МС/МС	Ги	$(185943 \pm 8096) \cdot C$	0.9990	0.0013	0.0043	0.004-1.5	0.004/1.5	$(0.0040 \pm 0.0004)/(1.5 \pm 0.08)$	4.4/2.2
		МГ	$(15206 \pm 685) \cdot C$	0.9989	0.006	0.020	0.02-100	0.02/25	$(0.020 \pm 0.002)/(25 \pm 2)$	4.5/3.2
		НДМГ	$(4928 \pm 211) \cdot C$	0.9990	0.04	0.13	0.15-250	0.15/75	$(0.15 \pm 0.01)/(76 \pm 4)$	3.4/2.0
4ПА	СФ	Ги	$(5.6 \pm 0.1) \cdot C$	0.9994	0.3	1.0	1-500	1/125	$(0.99 \pm 0.09)/(126 \pm 7)$	3.6/2.1
		МГ	$(3.29 \pm 0.09) \cdot C$	0.9991	0.8	2.7	3-1000	3/250	$(3.1 \pm 0.3)/(251 \pm 19)$	4.5/3.0
		НДМГ	$(2.55 \pm 0.06) \cdot C$	0.9992	1.4	4.8	5-1000	5/250	$(4.9 \pm 0.4)/(250 \pm 13)$	3.2/2.0
	МС/МС	Ги	$(196190 \pm 9780) \cdot C$	0.9987	0.0014	0.0046	0.005-5	0.005/1.25	$(0.0049 \pm 0.0005)/(1.25 \pm 0.08)$	4.2/2.7
		МГ	$(24777 \pm 1420) \cdot C$	0.9983	0.004	0.014	0.015-50	0.015/12.5	$(0.015 \pm 0.002)/(12 \pm 1)$	4.8/3.1
		НДМГ	$(11274 \pm 473) \cdot C$	0.9991	0.015	0.051	0.05-100	0.05/25	$(0.050 \pm 0.004)/(25 \pm 2)$	3.4/2.5
2НА	СФ	Ги	$(10.4 \pm 0.2) \cdot C$	0.9991	0.15	0.5	0.5-500	0.5/125	$(0.50 \pm 0.05)/(125 \pm 7)$	3.7/2.2
		МГ	$(2.4 \pm 0.1) \cdot C$	0.9964	3	9.7	10-1000	10/250	$(10 \pm 2)/(254 \pm 28)$	8.9/4.4
		НДМГ	$(2.77 \pm 0.07) \cdot C$	0.9993	1.4	4.6	5-1000	5/250	$(4.9 \pm 0.5)/(252 \pm 12)$	3.7/1.9
	МС/МС	Ги	$(178057 \pm 8097) \cdot C$	0.9989	0.0012	0.0040	0.05-10	0.004/2.5	$(0.0040 \pm 0.0004)/(2.5 \pm 0.2)$	3.8/2.9
		МГ	$(12820 \pm 963) \cdot C$	0.9971	0.017	0.056	0.06-100	0.06/25	$(0.06 \pm 0.01)/(2.5 \pm 0.2)$	8.2/4.1
		НДМГ	$(6768 \pm 308) \cdot C$	0.9989	0.019	0.064	0.07-120	0.07/30	$(0.07 \pm 0.01)/(30 \pm 2)$	6.5/2.5
2ХА	СФ	Ги	$(7.9 \pm 0.1) \cdot C$	0.9995	0.6	1.8	2-500	2/125	$(2.0 \pm 0.2)/(125 \pm 4)$	3.5/1.2
		МГ	$(2.45 \pm 0.06) \cdot C$	0.9994	2	8.0	8-1000	8/250	$(7.9 \pm 0.7)/(255 \pm 12)$	3.4/1.9
		НДМГ	$(2.37 \pm 0.05) \cdot C$	0.9995	1.8	5.9	6-1000	6/250	$(6.1 \pm 0.5)/(249 \pm 10)$	3.3/1.6
	МС/МС	Ги	$(387547 \pm 10411) \cdot C$	0.9996	0.0003	0.0010	0.001-2.5	0.001/0.75	$(0.0010 \pm 0.0001)/(0.76 \pm 0.03)$	4.4/1.5
		МГ	$(49698 \pm 711) \cdot C$	0.9999	0.0019	0.0064	0.007-25	0.007/7.5	$(0.0070 \pm 0.0006)/(7.5 \pm 0.4)$	3.4/2.2
		НДМГ	$(28366 \pm 448) \cdot C$	0.9999	0.002	0.0078	0.008-25	0.008/7.5	$(0.008 \pm 0.001)/(7.4 \pm 0.5)$	4.9/2.8

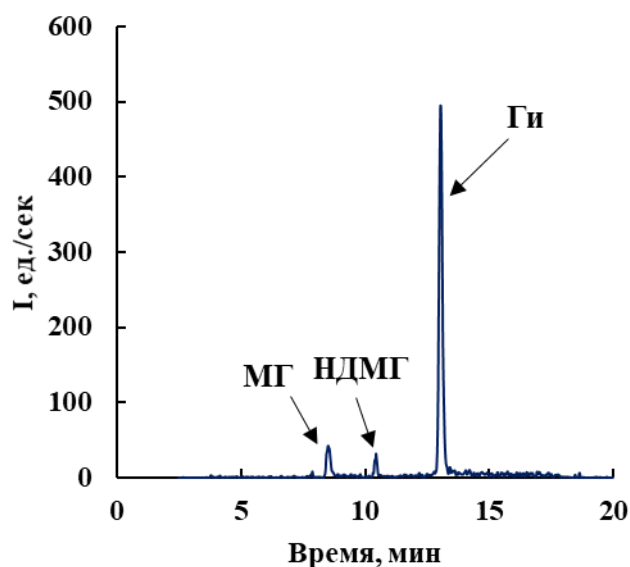


Рис. 8. Экспериментальная хроматограмма определения смеси Ги, МГ и НДМГ (по 0.01 мкг/л) в природной воде методом ОФ ВЭЖХ-МС/МС с предварительной дериватизацией 2ХА

Разработанные способы определения гидразинов характеризуются широким ЛДОК (до 5.5 порядков) за счет одновременного СФ и МС/МС детектирования, при этом не требуют проведения дополнительных стадий выделения и концентрирования производных, что обеспечивает хорошую воспроизводимость и правильность определения. Дополнительным преимуществом предложенных способов является возможность проводить одновременное определение нескольких гидразинов, в то время как другие высокочувствительные методики позволяют определять только один компонент. Предложенные условия проведения реакции являются мягкими и обеспечивают экспрессный количественный выход дериватов. Этих результатов удалось добиться благодаря тщательному изучению и выбору группового дериватирующего реагента, условий проведения реакции и хроматографического анализа. В перспективе разработанные способы определения гидразинов могут быть распространены на анализ не только вод, но и любых водных матриц, таких как кислотные вытяжки и дистилляты из почв, смывы с поверхностей, а также экстракты фармпрепаратов, биоматериалов и др.

ВЫВОДЫ

1. Для жидкостно-хроматографического определения гидразина (Ги), метилгидразина (МГ) и несимметричного диметилгидразина (НДМГ) предложены доступные дериватизирующие реагенты класса ароматических альдегидов – бензальдегид (БА), 2-, 3-, 4-метоксибензальдегиды (2МБА, 3МБА и 4МБА), 2-, 3-, 4-нитробензальдегиды (2НБА, 3НБА и 4НБА), 2-нафталинальдегид (2НА), гетероциклические незамещенные ароматические альдегиды 2-, 3-, 4-пиридинальдегиды (2ПА, 3ПА и 4ПА) и 2-хинолинальдегид (2ХА). Перечисленные реагенты ранее не использовались для одновременного определения указанных гидразинов (кроме 2НБА), а 6 из них (2МБА, 3МБА, 2НА, 2ХА, 2ПА, 3ПА) были предложены впервые.

2. Для повышения выхода гидразонов показана нецелесообразность нагревания реакционных смесей из-за разложения образующихся гидразонов. Для получения производных Ги, МГ и НДМГ предложено использовать иминный катализ, обеспечивающий по сравнению с традиционными некаталитическими буферными растворами увеличение скорости протекания реакции дериватизации, а также большую полноту протекания реакции в мягких условиях. Рекомендовано для последующего их одновременного определения проводить дериватизацию Ги, МГ и НДМГ ароматическими альдегидами в среде 0.56 М глицинового буферного раствора с pH 8.5.

3. Выявлены закономерности влияния природы гидразина и реагента на скорость образования гидразонов в отсутствие и при применении иминного катализа. Отмечено повышение скорости дериватизации гидразинов при использовании гетероциклических реагентов или реагентов с донорными заместителями в орто-положении, обеспечивающих внутримолекулярный автокатализ. Предложены условия проведения дериватизации, позволяющие экспрессно и с количественным выходом получать производные Ги, МГ и НДМГ с 12-тью групповыми реагентами.

4. Использование антиоксидантной добавки дитиотреитола позволяет повысить устойчивость гидразонов в водных растворах, необходимую при их хранении и проведении потокового анализа с применением систем с автоматической инъекцией проб.

5. На основании изучения влияния pH и состава подвижной фазы, а также природы неподвижной фазы на разделение гидразонов и аналитический сигнал при их СФ и МС детектировании установлены рекомендации по выбору условий одновременного хроматографического определения производных Ги, МГ и НДМГ.

6. Электронные спектры поглощения гидразонов Ги, МГ и НДМГ с 12-ю дериватизирующими реагентами, изученные в работе, не противоречат известным представлениям. Из соображений лучшей чувствительности для ВЭЖХ-СФ определения гидразинов рекомендовано использовать бициклические реагенты, такие как 2НА и 2ХА, обеспечивающие высокие коэффициенты поглощения с максимумами в длинноволновой области УФ-спектра.

7. Выявлены параметры, влияющие на вид масс-спектров гидразонов Ги, МГ и НДМГ в условиях электрораспыления (ЭРИ) и эффективность ионизации, а также отмечена перспективность использования бициклических реагентов с донорными заместителями и азотсодержащих гетероциклических реагентов для дериватизации гидразинов с целью увеличения чувствительности ВЭЖХ-МС/МС определения.

8. Предложен простой, быстрый и высокочувствительный подход к одновременному определению Ги, МГ и НДМГ в водных объектах в широком диапазоне концентраций методом ОФ ВЭЖХ-СФ-МС/МС с предколоночной дериватизацией ароматическим альдегидом, содержащим бициклический гетероцикл, и применении иминного катализа. Оценены метрологические характеристики определения Ги, МГ и НДМГ в водных объектах методом ОФ ВЭЖХ-СФ и ОФ-ВЭЖХ-МС/МС для всех 12 исследованных реагентов.

9. Предложен способ одновременного определения Ги, МГ и НДМГ в природных и питьевых водах при использовании предварительной дериватизации с 2ХА методом ОФ ВЭЖХ-СФ-МС/МС. Разработанная методика экспрессна (время дериватизации составляет 30 мин при комнатной температуре, а время анализа – 20 мин), не требует проведения концентрирования и выделения производных, характеризуется приемлемыми правильностью, воспроизводимостью и высокой чувствительностью, позволяя проводить определение Ги, МГ и НДМГ в диапазоне концентраций 0.001-500, 0.007-1000 и 0.008-1000 мкг/л соответственно.

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

Научные статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus, RSCI и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 02.00.02 – «Аналитическая химия»:

1. **Timchenko Yury V.**, Stavrianidi Andrey N., Smolenkov Alexander D., Pirogov Andrey V., Shpigun Oleg A. A novel simple and sensitive approach for determination of 1,1-dimethylhydrazine in aqueous samples by high performance liquid chromatography with ultraviolet and tandem mass spectrometric detection after derivatization with unsubstituted aromatic aldehydes. // Chemosphere. 2021. V. 280. 130747. Импакт-фактор Web of Science – 6.956, **Q1**.

2. **Тимченко Ю.В.**, Апенкина А.В., Смоленков А.Д., Пирогов А.В., Шпигун О.А. Одновременное определение гидразина, метилгидразина и 1,1-диметилгидразина в водах методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием с применением катализа для получения производных. // Журн. аналит. химии. 2021. Т. 76. №. 10. С. 927-936. Импакт-фактор RSCI – 0.996. (перевод: **Timchenko Yu.V.**, Apenkina A.V., Smolenkov A.D., Pirogov A.V., Shpigun O.A. Simultaneous Determination of Hydrazine, Methylhydrazine and 1,1-Dimethylhydrazine in Waters by HPLC with Spectrophotometric Detection Using Catalysis to Obtain Derivatives. // J. Anal. Chem. 2021. V. 76. №. 10. P. 1163-1171. Импакт-фактор Web of Science – 1.055, **Q4**).

3. **Тимченко Ю.В.**, Беликова И.В., Смоленков А.Д., Пирогов А.В., Шпигун О.А. Определение 1,1-диметилгидразина в воде методом высокoeffективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием с применением мицеллярного катализа для получения производных. // Завод. лабор. Диагн. матер. 2020. Т. 86. №. 9. С. 14-23. Импакт-фактор RSCI – 0.243.

Иные публикации:

4. **Тимченко Ю.В.** Исследование реакций образования диметилгидразонов в водных и микроэмульсионных средах и их применение для последующего ВЭЖХ-УФ определения 1,1-диметилгидразина. / в сборнике материалов Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2019», Москва, 8 - 12 апреля 2019, С. 90.

5. **Тимченко Ю.В.**, Смоленков А.Д., Болотник Т.А., Пирогов А.В., Шпигун О.А. Определение 1,1-диметилгидразина в питьевой воде методом ВЭЖХ-УФ с предварительной дериватизацией незамещенными ароматическими альдегидами. / в сборнике тезисов докладов XI Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды с международным участием «ЭКОАНАЛИТИКА-2019», Пермь, 27 мая - 01 июня 2019 г., С. 159.

6. **Тимченко Ю.В.**, Ставрианиди А.Н., Смоленков А.Д., Пирогов А.В., Шпигун О.А. Новые простые и экспрессные подходы к определению 1,1-диметилгидразина в природной воде методом ВЭЖХ-МС/МС с предварительной дериватизацией незамещенными ароматическими альдегидами. / в сборнике материалов IV Всероссийской конференции с международным участием «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез», Краснодар, 28 сентября - 2 октября 2020, С. 131.

7. Апенкина А.В., **Тимченко Ю.В.** Новые подходы к одновременному определению гидразина и 1,1-диметилгидразина методом ВЭЖХ-УФ с применением катализа для получения производных. / в сборнике материалов Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2021», Москва, 12-23 апреля 2021, С. 4.

8. **Тимченко Ю.В.**, Ставрианиди А.Н., Смоленков А.Д., Пирогов А.В., Шпигун О.А. Простой и экспрессный подход к одновременному определению гидразина, метилгидразина и 1,1-диметилгидразина в водах методом ВЭЖХ-МС/МС с предварительной дериватизацией 2-хинолинальдегидом и применением каталитических систем для получения производных. / в сборнике материалов VI Всероссийского симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» с международным участием», Краснодар, 26 сентября - 2 октября 2021, С. 221.

Автор выражает искреннюю признательность и благодарность научному руководителю д.х.н. Смоленкову А.Д. за участие и помощь в постановке задач и обсуждении результатов исследования; к.х.н. Ставрианиди А.Н. за помощь в обработке и интерпретации экспериментальных данных; д.х.н., проф., член-корр. РАН Шпигуну О.А. и д.х.н., проф. Пирогову А.В. за консультацию по тематике работы; всем членам лаборатории хроматографии за помощь в работе и поддержку.