

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М.В.ЛОМОНОСОВА

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

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

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Научный руководитель:
док. хим. наук, доцент Смоленков А.Д.

Москва – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1. Применение гидразина и его производных. Физико-химические свойства. Токсичность	10
1.2. Методы определения гидразинов	16
1.2.1. Нехроматографические методы	17
1.2.2. Хроматографические методы	39
Глава 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	75
2.1. Реактивы, материалы и оборудование.....	75
2.1.1. Реактивы и материалы	75
2.1.2. Хроматографическое оборудование	75
2.1.3. Хроматографические колонки	76
2.1.4. Прочее оборудование	77
2.1.5. Объекты исследования.....	77
2.2. Техника эксперимента	77
2.2.1. Приготовление растворов	77
2.2.2. Схема выбора условий реакций дериватизации гидразинов	79
2.2.3. Условия хроматографического анализа	80
РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	85
Глава 3. Исследование реакций дериватизации гидразинов с ароматическими альдегидами.....	85
3.1. Взаимодействие гидразинов с карбонильными соединениями	85
3.2. Обоснование выбора дериватирующих реагентов	90
3.3. Выбор условий хроматографического разделения	91
3.4. Выбор условий спектрофотометрического определения	94
3.5. Водородный показатель (рН)	100
3.6. Концентрация буферного раствора	106
3.7. Концентрация реагента	107
3.8. Температура реакции	111

3.9. Оценка полноты протекания реакций дериватизации	120
3.10. Влияние рН подвижной фазы на устойчивость дериватов в условиях ОФ ВЭЖХ анализа	121
Глава 4. Выбор условий масс-спектрометрического детектирования	122
4.1. Потенциал декластеризации	122
4.2. Водородный показатель (рН) подвижной фазы	126
4.3. Выбор характеристичных ММР-переходов	128
Глава 5. Разработка и апробация подхода к одновременному определению гидразинов в природных и питьевых водах	135
5.1. Расщепление полезного сигнала определения гидразинов	135
5.2. Характеристики хроматографического определения гидразинов и анализ реальных водных объектов	136
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	146
ВЫВОДЫ	148
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ	150
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	153
ПРИЛОЖЕНИЕ	182

ВВЕДЕНИЕ

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 тандемным масс-спектрометрическим детектированием (МС/МС). Однако отсутствуют систематические исследования по выбору дериватирующих 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 тандемным 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-нафталиальдегид, 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 тандемным 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 дериватирующих 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 дериватирующие 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-нафталинальдегид 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, необходимым 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Применение гидразина и его производных. Физико-химические свойства. Токсичность

На сегодняшний день гидразин (диамид, **Ги**) находит широкое применение в различных областях деятельности человека. Благодаря своим восстановительным свойствам применяется в качестве ингибитора коррозии и восстановителя металлов в энергетике и металлургической отрасли [1, 2]. Кроме Ги широко используются метилзамещенные гидразины такие, как метилгидразин (**МГ**) и 1,1-диметилгидразин (несимметричный диметилгидразин, **НДМГ**). Ги и его простейшие производные являются продуктами многотоннажного производства, и активно используются в промышленном синтезе порообразователей и инициаторов свободно-радикальной полимеризации, в производстве синтетических красителей, пестицидов, гербицидов и регуляторов роста растений, а также различных фармпрепаратов. Благодаря высокой теплоте сгорания Ги, МГ и НДМГ зарекомендовали себя в качестве компонентов высокоэффективного ракетного топлива. Изомер НДМГ 1,2-диметилгидразин (симметричный диметилгидразин, **СДМГ**) нашел ограниченное применение в лабораторных исследованиях. Другие алкилгидразины (**АГ**) не нашли широкого применения [3-9].

Важнейшей особенностью Ги и производных является наличие вицинальных неподеленных пар электронов атомов азота, взаимодействие которых определяет их специфическое электронное и пространственное строение, физико-химические свойства и реакционную способность [10]. Ги и его моно-, ди-, три- и тетраалкилзамещенные в чистом виде представляют собой легкокипящие, гигроскопичные бесцветные жидкости с резким аммиакоподобным запахом. Они являются полярными соединениями, благодаря чему имеют высокую растворимость в воде, низкомолекулярных спиртах, ацетонитриле и некоторых простых эфирах. Растворимость в менее полярных растворителях увеличивается с ростом числа заместителей и их длины в структуре АГ [2, 4, 11]. В водном растворе Ги и АГ проявляют свойства слабых оснований и существуют в виде двух, находящихся в равновесии, протонированных таутомерных форм (схема 1).

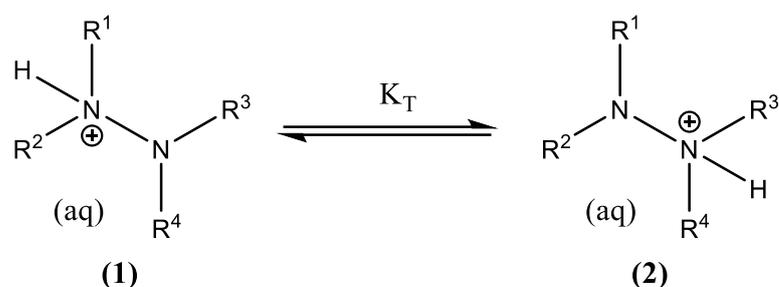


Схема 1. Равновесие протонированных таутомерных форм АГ в водном растворе [13]

Величина константы равновесия перехода одной формы в другую (K_T) зависит от типа и количества заместителей (R) при каждом атоме азота (табл. 1). Алкильные радикалы обладают выраженным положительным индуктивным (+I) эффектом и способны стабилизировать положительный заряд на протонированном атоме азота. По этой причине в протонной среде АГ протонируются преимущественно по атому азота с большим числом алкильных заместителей и большей длиной их углеводородной цепи [12, 13]. Присоединение ионов водорода по обеим аминогруппам Ги и АГ возможно только либо в сильноокислых средах или в твердом состоянии соответствующих солей [4, 14].

Таблица 1. Температура кипения и основность (при 25 °С) Ги и некоторых АГ

Гидразин $\text{R}^1\text{R}^2\text{N}-\text{NR}^3\text{R}^4$	$T_{\text{кип}}$, °С [10, 11]	pK_{a1} [13]	pK_T [13]	Доля формы (1), % [13]
$\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$	113.5 (120.5 ^a)	7.95	–	–
$\text{MeHN}-\text{NH}_2$	87.7-87.9 (105.2 ^b)	7.85	0.40	72
$\text{Me}_2\text{N}-\text{NH}_2$	62.8-63.8	7.12	0.58	79
$\text{MeHN}-\text{NHMe}$	81	7.49	–	–
$\text{Me}_2\text{N}-\text{NHMe}$	59.3-59.5	6.58	0.17	60
$\text{Me}_2\text{N}-\text{NMe}_2$	73.2-74.2	6.10	–	–
$\text{EtHN}-\text{NH}_2$	99-101	7.91	0.95	90
$\text{Et}_2\text{N}-\text{NH}_2$	99.0-99.2	7.56	0.74	85
$\text{EtNH}-\text{NHEt}$	108.1	7.55	–	–
$\text{Et}_2\text{N}-\text{NHEt}$	н/д	7.08	-0.23	37
$\text{Et}_2\text{N}-\text{NEt}_2$	н/д	7.31	–	–
$\text{EtNH}-\text{NHMe}$	н/д	7.50	0.55	78
$\text{Et}_2\text{N}-\text{NHMe}$	н/д	7.14	0.33	68
$\text{Et}_2\text{N}-\text{NMe}_2$	н/д	6.88	0.15	59

^a азеотроп с водой (64% Ги); ^b азеотроп с водой (47.3% МГ);

Гидразины являются сильнейшими восстановителями, способными медленно окисляться кислородом в воздухе даже при комнатной температуре. Разлагаются и диспропорционируют при повышенных температурах. Для того чтобы понять

основные химические свойства гидразинов, их удобно рассматривать как аминокподобные соединения с NH_2 -, NHR^1 - или NR^1R^2 -группами. С этой точки зрения гидразины, благодаря наличию неподеленной пары электронов атома азота, проявляют свойства нуклеофильных агентов и по аналогии с аминами вступают в реакции комплексообразования, ароматического нуклеофильного замещения, способны взаимодействовать с алкилирующими реагентами (алкилгалогенидами и эпоксидами), органическими кислотами и их производными (ангидридами, галогенангидридами и амидами) с образованием соответствующих гидразидов, с карбонильными соединениями, образуя аналоги оснований Шиффа (гидразоны и азины), и другими электрофильными агентами. В гомологическом ряду АГ наибольшей реакционной способностью обладает сам Ги, а далее активность уменьшается по мере увеличения количества и длины алкильных заместителей. При этом несимметричные производные более реакционноспособны, чем симметричные. Поскольку в водных растворах АГ преимущественно протонирована замещенная аминогруппа, данные типы реакций протекают с участием свободного непротонированного атома азота [1-4, 10].

Ввиду своей высокой химической активности, гидразины в природной среде в свободном виде, как правило, не встречаются, а их обнаружение может свидетельствовать об антропогенном загрязнении [15, 16]. Одним из основных причин попадания Ги, МГ, и НДМГ в окружающую среду является ракетно-космическая деятельность человека. Гидразины могут быть обнаружены в местах их производства и хранения. В качестве примесей гидразины содержатся во всех продуктах химической промышленности, где гидразин и его производные активно применяются в процессах синтеза. Некоторые синтетически полученные таким образом соединения могут при определенных условиях, в том числе условиях окружающей среды, подвергаться трансформации с образованием свободных форм гидразинов [17-19]. Ги может быть возможным побочным продуктом дезинфекции (хлорирования) питьевых и сточных вод [20].

Гидразин и его производные входят в перечень крайне опасных веществ для здоровья человека и животных всех национальных контролируемых органов мира.

Американское агентство по защите окружающей среды¹ и Европейское химическое агентство² относят гидразины к классу возможно канцерогенных веществ для человека [21-25]. При этом нормируются только Ги и некоторые его производные. Так, Управление по охране министерства труда США³ устанавливает для Ги, МГ и НДМГ следующие предельно-допустимые концентрации (ПДК⁴) в воздухе рабочих зон (ВРЗ) 1.3 мг/м³, 0.35 мг/м³ и 1 мг/м³ соответственно [24-26]. в Европейском союзе аналогичный показатель для этих же веществ на два порядка ниже и составляет 0.013 мг/м³, 0.02 мг/м³ и 0.02 мг/м³ соответственно [27]. Стоит отметить, что зарубежные нормативные документы не устанавливают требований по содержанию гидразинов в других объектах [28]. Однако, для Ги существуют оценки безопасного уровня концентрации в питьевой воде E-6⁵ – 0.1 мкг/л [29]. В руководствах, выпущенных Европейским медицинским агентством⁶ и Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США⁷, по предельным значениям генотоксических и канцерогенных примесей в лекарственных средствах, рекомендованный уровень содержания Ги в готовой продукции составляет порядка 1 мг/кг [22, 30].

На постсоветском пространстве Ги и простейшие АГ относят к веществам первого класса опасности и канцерогенам, и в отличие от западных стандартов контроль их присутствия и содержания осуществляют еще в водных объектах и почве. В настоящее время в России установлены низкие санитарно-гигиенические нормативы содержания гидразинов. «Роспотребнадзор»⁸ в порядке санитарного надзора систематически контролирует соблюдение нормативов в водных объектах культурно бытового и хозяйственно-питьевого назначения (КБХПН), атмосферном воздухе городских и сельских поселений (АВ), ВРЗ и почве. Контроль

¹ Environmental Protection Agency (EPA);

² European Chemicals Agency (ECHA);

³ Occupational Safety and Health Administration, OSHA;

⁴ В оригинале Permissible Exposure Limits (PEL) – средневзвешенная во времени концентрация, рассчитанная на 8-часовой рабочий день и 40-часовую рабочую неделю, воздействию которой могут подвергаться без негативных эффектов почти все рабочие (аналог ПДК);

⁵ Расчетный показатель, соответствующий концентрации возможного канцерогена, при постоянном воздействии которой риск возникновения рака у человека составляет 1 на 1000000;

⁶ European Medicines Agency (EMA);

⁷ Food and Drug Administration (FDA);

⁸ Федеральная служба Российской Федерации по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

за состоянием водоёмов рыбохозяйственного назначения (РХН) осуществляют органы Минсельхоза (табл. 2).

Начиная с середины прошлого века и по настоящий момент активно ведутся исследования по изучению и выявлению токсического действия и мутагенной активности гидразинов, на эту тему опубликовано большое количество работ. Обнаружено, что гидразины обладают аллергическим, гепатотоксическим, гемолитическим, генотоксическим, нейротоксическим и канцерогенным действием, вызывая систематические нарушения в организме или даже летальный исход [31].

Таблица 2. Нормативы содержания для Ги, МГ и НДМГ, установленные в Российской Федерации [32, 33]

Вещество	ОБУВ ^а (ПДК) АВ, мг/м ³	ПДК ВРЗ, мг/м ³	ДСД ^в , мг/кг/сут	ПДК (ОДУ ^г) КБиХПН, мг/л	ПДК РХН, мг/л	ПДК почва, мг/кг
Ги	0.001	0.3	–	0.01 (отсутствие)	0.0003	–
МГ	–	0.1	–	–	–	–
НДМГ	(0.001) ^б	0.1	0.0003	(0.00006)	0.0005	0.1

^а - ориентировочный безопасный уровень воздействия; ^б – среднесуточный уровень; ^в - допустимая суточная доза в организме человека (на 1 кг массы тела в сутки); ^г - ориентировочный допустимый уровень.

В чистом виде гидразины являются довольно летучими жидкостями, поэтому существует опасность негативного воздействия на людей, контактирующих с этими веществами, через органы дыхания [34]. Гидразины быстро абсорбируются в легких, желудочно-кишечном тракте и кожей. В проведенных обширных токсикологических исследованиях [35, 36] наблюдали повышенную смертность, сопровождаемую рвотой, судорогами, одышкой и нарушением пищеварения у животных, подвергавшихся постоянному ингаляционному воздействию Ги и НДМГ с концентрацией порядка 1 мг/м³ в течении нескольких недель и более. При этом, у подопытных отмечены поражения, воспаления и образование опухолей в легких, дыхательных путях, печени и щитовидной железе, нарушения репродуктивных функций. Авторы исследований [37-39] отмечают аналогичные симптомы, высокую смертность и развитие злокачественных новообразований преимущественно в печени и кишечнике у грызунов при постоянном пероральном введении порядка 1 мг/(кг·сутки) гидразинов с питьевой водой. А данные, представленные в работах [40, 41], показывают, что воздействие на кожу больших доз гидразинов может быть летальным.

При попадании в организм гидразины сразу активно вступают в ряд химических процессов. Благодаря свободной аминогруппе они образуют гидразоны с альфа-кетокислотами и производными витамина В6, участвующими в таких важных клеточных процессах, как глюкогенез, реакциях переаминирования, декарбоксилирования и других превращениях аминокислот, метаболизме липидов и нуклеиновых кислот, фосфорилировании гликогена [42, 43]. Генотоксический эффект проявляется в их способности запускать каскад как ферментативных, так и неферментативных процессов в клетках, приводящих к алкилированию молекулы ДНК, тем самым повреждая ее и вызывая мутации [44-47].

В окружающей среде гидразины способны связываться с органоминеральным комплексом почв и мигрировать с почвенным раствором в них, а благодаря хорошей растворимости в воде быстро распределяться в водных объектах, при этом из-за своей летучести они могут активно переходить в атмосферу [16]. Ги и простейшие АГ быстро разлагаются в атмосферных условиях в присутствии кислорода, озона и диоксида азота, а периоды полураспада в зависимости от условий могут составлять нескольких минут или часов [48, 49]. В воде и почве подвергаются как биотическому, так и абиотическому разложению. Степень протекания этих процессов зависит от рН, жесткости, температуры, концентрации кислорода и присутствия органических веществ и ионов металлов [50-53].

Применение регуляторов роста растений таких, как даминозид (диметилгидразид янтарной кислоты) и малеиновый гидразид, неизбежно приводит к тому, что они накапливаются в сельскохозяйственных культурах, а затем попадают в готовую продукцию, в том числе в продукты питания [17, 54]. НДМГ и Ги являются одними из продуктов трансформации данных соединений, которая проходит особенно интенсивно при термической обработке, например в процессе приготовления пищи [55].

Некоторые АГ способны образовывать ряд продуктов окислительной деградации в том числе в естественных условиях окружающей среды. Несколько последних десятилетий ведутся исследования по поиску и определению продуктов трансформации НДМГ. На данный момент список этих продуктов насчитывает несколько десятков соединений различных классов веществ – триазолы, N-нитрозоамины, гидразоны, гуанидины и др. [56-58]. Достоверных данных о

токсичности многих из них на данный момент нет, как и соответствующих нормативов, но их биологическая активность не вызывает сомнений. Для N-нитрозодиметиламина существуют убедительные данные о его канцерогенном и токсическом действии на организм человека [59, 60]. Последствия воздействия НМДГ и продуктов его окислительной трансформации на окружающую среду и здоровье человека были оценены с помощью расчетных QSAR/QSPR⁹ методов. Показано, что все продукты трансформации обладают хорошей биодоступностью, значительным миграционным потенциалом и быстрой биоразлагаемостью в окружающей среде. Предсказана довольно низкая как для окружающей среды, так и для человека токсичность большинства продуктов трансформации за исключением веществ класса гидразинов, гидразонов и гидразидов, N-нитрозодиметиламина и 1,1,4,4-тетраметилтетразена [61, 62].

Ги и его производные – это промышленно значимые химические соединения, которые попадают в окружающую среду в результате их активного использования в различных сферах деятельности человека. На основании многочисленных токсикологических исследований существуют убедительные свидетельства крайне негативного воздействия гидразинов на окружающую среду, а также здоровье человека и животных. Отсутствие полного понимания механизмов токсического действия этих поллютантов объясняет не прекращающиеся исследования в этом направлении. Выявление новых негативных эффектов неизбежно будет приводить к систематическому ужесточению уже существующих довольно низких санитарно-гигиенических нормативов и требований: экологических, производственного контроля, к качеству производимой продукции. Поэтому актуальной задачей является создание новых высокочувствительных подходов, способных надежно определять гидразины в следовых количествах.

1.2. Методы определения гидразинов

Сегодня к разрабатываемым методикам количественного анализа предъявляются строгие требования. Они должны обладать необходимой

⁹ QSAR/QSPR – метод исследований в компьютерной химии, основанный на применении методов математической статистики и машинного обучения и направленный на поиск количественных соотношений структура-свойство

чувствительностью и достаточной селективностью, отсутствием систематических погрешностей, воспроизводимостью результатов, быть просты, экспрессны, с возможностью одновременного определения всех интересующих компонентов, а также экономически целесообразны в плане доступности используемых реактивов, оборудования и квалификации персонала широкому кругу аналитических лабораторий.

Определение Ги и АГ осложнено ввиду их высокой полярности, термолабильности, склонности к окислению, отсутствия хромофорных групп и низкой молекулярной массы. Однако гидразины обладают сильными восстановительными свойствами и высокой химической активностью, что успешно используют для создания методик их определения в аналитической химии. Основные известные на данный момент методы определения гидразинов можно разделить на две большие группы: методы с предварительным разделением компонентов (хроматографические) и без него (нехроматографические).

1.2.1. Нехроматографические методы

1.2.1.1. Спектрофотометрия

Исторически, спектрофотометрия (СФ) является одним из первых инструментальных физико-химических методов и позволяет определять вещества на уровне от 10^{-5} М. Начиная с середины XX века этот метод стали активно использовать для определения гидразина и его производных. Благодаря дешевизне аппаратного оформления и простоте в проведении анализа, СФ вариант определения гидразинов до сих пор является одним из самых популярных и широко используемых в современных лабораториях. Гидразины не имеют в своей структуре хромофорных групп, способных обеспечить поглощение электромагнитного излучения в ближней ультрафиолетовой (УФ) и видимой областях спектра, поэтому их прямое определение данным методом невозможно. В таких случаях используют СФ реакции, в результате которых образуются либо производные гидразинов (реакции дериватизации) или другие окрашенные продукты, имеющие высокие молярные коэффициенты поглощения в этих областях спектра [63]. В табл. 3 представлены известные способы спектрофотометрического определения гидразинов.

Таблица 3. Спектрофотометрическое определение гидразинов

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	λ , нм	Объект	ЛДОК ^в , мг/л	C_{\min}^r , мг/л	Лит. источник
Ги	Хлорид трифенилтетразолия	0.1 М NaOH, 100°C, 60 мин	530	Модельные растворы	0.05-0.25 мг/мл экстрагента	–	[64]
Ги	Пери-нафтиндан-2,3,4-трион	ЦБР рН 2.5, 90°C, 5 мин	460	Модельные растворы	1-15	–	[65]
МГ					4-15		
Ги	ФМК	1 М H ₂ SO ₄ , 100°C, 7 мин	822	Модельные растворы	0.3-3.2	–	[66]
МГ	ФМК	0.1 М HCl, 87°C, 50 мин	730	Воздух рабочих зон	0.05-5 мг/м ³	0.7 мкг (на 20 л образца)	[67]
НДМГ	ФМК	0.1 М HCl, 95°C, 60 мин	730	Воздух рабочих зон	0.02-2.5 мг/м ³	1 мкг (на 20 л образца)	[68]
Ги	Fe ³⁺ , феррозин	0.3 М ХАБР рН 1.6-1.9, 95°C, 25 мин	562	Модельные растворы	0.04-0.4 М	–	[69]
МГ		0.3 М ХАБР рН 1.6-1.9, 85°C, 40 мин					
НДМГ		0.3 М ХАБР рН 1.6-1.9, 70°C, 14 мин					
Изониазид	1,10-Фенантролин, Fe ³⁺	рН 2-6, 20°C, 30 мин	512	Фармпрепараты	0.4-5.0	–	[70]
Ги	Неокупроин, Cu ²⁺	ББР рН 9.3, 20°C, 10 мин	458	Модельные растворы	1.5-12	–	[71]
Ги	Неокупроин, Cu ²⁺	АБР рН 5.2, 0.012 М ЦТАБ, 100°C, 60 и 220 сек	450	Модельные растворы	0.5-5	0.03	[72]
Семикарбазид					0.5-3.75		
Ги	Желатин, Ag ⁺	NaOH рН 8.0, 30°C, 30 мин	415	Модельные растворы	0.65-2.62	–	[73]
НДМГ	HAuCl ₄	ФБР рН 8, 0.015 М ЦТАБ, 20°C, 5 мин	550	Питьевые и сточные воды	0.0005–0.01	0.0002	[74]
НДМГ	HAuCl ₄	ФБР рН 7, 10 г/л повидон, 20°C, 4 мин	532	Питьевые воды	2-100·мкМ	0.35·мкМ	[75]
Ги	Метиленовый синий, Pd (наночастицы)	ББР рН 9.5, 20°C, 10 мин	662	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	6-600 мкМ	3.85·мкМ	[76]
Ги	Нейтральный красный, NO ₂ ⁻	0.3 М HCl, 28°C, 6 мин	352	Питьевые воды	0.47-3.1 мкМ	3.1·мкМ	[77]

Таблица 3 (продолжение). Спектрофотометрическое определение гидразинов

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	λ , нм	Объект	ЛДОК ^в , мг/л	C_{\min}^r , мг/л	Лит. источник
Ги	1. NO_3^- , $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$; 2. 4-Нитроанилин, N-(1-Нафтил)этилендиамин	1. АмБР рН 10.6, 100°C, 30 мин 2. АмБР рН 10.6, 20°C, 5 мин	545	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	0.042-1.5	0.042	[78]
Ги	1. IO_3^- ; 2. NH_2OH , Сульфаниловая кислота; 3. N-(1-Нафтил)этилендиамин	0.025 М НСl, 20°C, 20 мин	540	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	0.02-0.4	0.0031	[79]
НДМГ	$\text{Na}_3[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NH}_3]$	ФБР рН 5.4, 20°C, 60 мин	500	Кровь, моча, вода; воздух	1-60; 2.5-50 мг/м ³	–	[80-82]
НДМГ	$\text{Na}_3[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NH}_3]$	ФБР/ЦБР рН 5.4, 20°C, 20 мин	480	Моча	10-60	–	[83]
Ги	Пикрилхлорид	АБР рН 3.3-5.0, 20°C, 15 мин	494	Модельные растворы	0.5-30	–	[84]
Ги	Пикрилсульфо кислота	ББР рН 8.5, 20°C, 40 мин	570	Модельные растворы	2-20 мкМ	–	[85]
Ги	1Х24ДНБ	рН не контролировался, «Pani», 50°C, 30 мин	626	Питьевые воды	4-100 мМ	10 мкМ	[86]
МГ					4-100 мМ	5 мкМ	
НДМГ					1-100 мМ	1 мкМ	
Ги	4ДАБ	1 М НСl, 20°C, 10 мин	458	Модельные растворы	0.06-0.47	–	[87]
Ги	4ДАБ	$\text{CH}_3\text{COOH}_{\text{конц}}$, 20°C, 15 мин	480	Моча	0.01-10	–	[88]
Ги	4ДАБ	1 М НСl, 20°C, 10 мин	458	Подпиточные, природные воды, конденсаты	0.005-0.2	–	[89]
Ги	4ДАБ	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$, 20°C, 10 мин	455	Контурные воды АЭС	0.005-0.8	0.0015	[90]
Ги	4ДАБ	0.8 М НСl, 20°C, 2 мин	456	Фармпрепараты	–	0.77 мг/кг	[91]
Ги	1. 1Х24ДНБ; 2. 4ДАБ	1. АБР рН 5.2, 100°C 2. 0.8 М НСl, 20°C	458	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	0.021-0.7	0.021	[92]
Ги	4ДАБ	0.1 М НСl, 0.02 М ДДСН, 20°C, 10 мин	468	Модельные растворы	0.004-0.1	–	[93]
Ги	4ДАБ, 4НБА	10.02 М НСl, 0.02 М ДДСН, 75°C, 5 мин	485	Плазма, питьевые и природные воды	0.02-0.5	–	[94]
ФенилГи			447		0.20-10		
Ги	4ДАБ	0.02 М НСl, 0.02 М ДДСН, 60°C, 5 и 20 мин	460	Плазма, питьевые, талые, природные воды	0.02-0.7	–	[95]
АцетилГи					0.2-5		

Таблица 3 (продолжение). Спектрофотометрическое определение гидразинов

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	λ , нм	Объект	ЛДОК ^в , мг/л	C_{\min}^{Γ} , мг/л	Лит. источник
Ги	4ДАБ	0.016 М НСl, 0.2% ДДСН, 0.2% Тритон X-114, 20°C, 5 мин	485	Кровь, моча, питьевые и природные воды	0.00050-0.11	0.00008	[96]
Ги	4ДАБ	pH не контролировался, 20°C, 5-30 мин	464	Подпиточные, природные воды, моча	0.00008-0.0012	–	[97]
Малеиновый гидразид	4ДАБ	0.17 М H ₂ SO ₄ , 20°C, 15 мин	455	Части растений, ткани животных, почвы	0.5-5 млн ⁻¹	–	[98]
Ги	4ДАБ	НСl (10%), 60 °С, 5 мин	555	Фармпрепараты	0.2-2.4	–	[99]
Изониазид			515		4-40		
НДМГ	4ПА	CH ₃ COOH _{конц} , 20°C, 15 мин	380	Кровь	1.0-10.0	–	[100]
Изониазид	6Ме2ПА	НСl/КСl pH 1, 95°C, 10 мин	328	Фармпрепараты	1.4-6.8	–	[101]
Ги	4ГЗМБА	0.25 М H ₂ SO ₄ , 40°C, 15 мин	400	Природная вода, моча	0.65-5	–	[102]
Ги	34ДМБА	0.2 М H ₂ SO ₄ , 20°C, 10 мин	410	Сточная вода, моча, сыворотка	0.065-0.3	–	[103]
Ги	СА	CH ₃ COOH _{конц} , 60°C, 15 мин	293,325,360	Модельные растворы	0.29-1.25	–	[104]
НДМГ					0.25-4.52		
Ги	2ГНА	АБР pH 4.6-6.6, 100°C, 20 мин	412	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	0.035-0.7	–	[105]
Ги	5Н2ФА	ФБР pH 5, 60°C, 40 мин	385	Модельные образцы, почва	–	0.005	[106]
МГ			420			0.003	
НДМГ			454			0.0015	

^а 1Х24ДНБ – 1-Хлор-2,4-Динитробензол; 2ГНА – 2-Гидрокси-1-нафталдегид; 34ДМБА – 3,4-Диметоксибензальдегид; 4ГЗМБА – 4-гидрокси-3-метоксибензальдегид (ванилин); 4ДАБ – 4-Диметиламинобензальдегид; 4НБА – 4-нитробензальдегид; 4ПА – 4-Пиридинкарбоксальдегид; 5Н2ФА – 5-Нитро-2-фуральдегид; 6Ме2ПА – 6-Метил-2-пиридинальдегид; СА – салициловый альдегид; ФМК – Фосфомолибденовая кислота;

^б «Рапи» – полианилин; АБР – ацетатный буферный раствор; АМБР – аммиачный буферный раствор; ББР – боратный буферный раствор; ДДСН - додецилсульфат натрия; ФБР – фосфатный буферный раствор; ХАБР – хлорацетатный буферный раствор; ЦБР – цитратный буферный раствор; ЦТАБ - цетилтриметиламмония бромид;

^в линейный диапазон определяемых концентраций; ^Г предел обнаружения.

Окислительно-восстановительные реакции. Восстановительные свойства гидразинов используют в разработке методик их косвенного определения. Образование интенсивно окрашенных продуктов восстановления солей трифенилтетразолия [64] и пери-нафтиндан-2,3,4-триона в присутствии Ги или МГ [65] использовали для их определения в воде.

Гидразины способны восстанавливать ФМК при нагревании до молибденовой сини, интенсивно поглощающей в зависимости от рН в диапазоне 700-850 нм. Данную реакцию использовали для определения Ги в воде [66], а также для определения МГ [67] и НДМГ [68] в воздухе в соответствии с подходами, разработанным Национальным институтом охраны труда США¹⁰.

Широкое применение нашли реакции с появлением или изменением окраски комплексов переходных металлов в результате их восстановления в присутствии гидразинов. Так, авторами работы [69] описан подход к одновременному определению Ги или его метилированных производных и гидроксилamina в водных образцах, основанный на разнице в скорости восстановления железа (III) в комплексе с феррозином гидразином и гидроксилaminом. Другой комплекс железа (III) с 1,10-фенантролином применяли для спектрофотометрического определения изониазида, изокарбоксазида, ипрониазида и фенелзина в противотуберкулезных и психотропных фармпрепаратах [70].

Образование интенсивно окрашенной восстановленной формы комплекса меди (II) с неocupроином в реакции с Ги и арилгидразинами в слабощелочной среде использовали для их определения в воде [71]. Та же реакция лежит в основе подхода к одновременному определению Ги и семикарбазида методом стандартных добавок при изопараметрических значениях сигнала фонового компонента (**H-PSAM**)¹¹ [72].

Соли серебра (I) и золота (III) в мягких условиях могут восстанавливаться, образуя растворы коллоидных наночастиц свободного металла. Такие системы, как правило, неустойчивы, поэтому их стабилизируют добавками ПАВ и некоторых водорастворимых полимеров. Взаимодействие колеблющегося электромагнитного поля излучения со свободными электронами металлических наночастиц приводит к возникновению такого оптического явления, как локальный поверхностный

¹⁰ National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)

¹¹ H-point standard addition method (H-PSAM)

плазmatронный резонанс¹². В результате растворы таких коллоидных наночастиц интенсивно поглощают в оптическом диапазоне длин волн, что используют для определения гидразинов. Так, образование золя серебра в результате восстановления комплекса серебра (I) с желатином было использовано авторами работы [73] для определения Ги в воде. Получение окрашенных растворов наночастиц золота, стабилизированных ЦТАБ [74] и поливинилпирролидоном (повидон) [75], в реакции восстановления солей золота (III) применили для определения НДМГ в питьевых и сточных водах. Каталитический эффект наночастиц коллоидного палладия, стабилизированных желатином, в реакции восстановления метиленового синего в бесцветное производное в присутствии Ги использовали для его определения в пробах воды [76].

Присутствие гидразинов может замедлять реакции с участием некоторых окислителей. Так, ингибирующий эффект Ги в реакции нейтрального красного с нитритом лежит в основе кинетического СФ подхода к его определению в водных образцах [77].

Реакция азосочетания – известный способ получения интенсивно окрашенных азосоединений. В работах [78, 79] предложены СФ подходы, в основе которых лежит образования эквивалентного количества нитрит-иона в реакции с участием гидразинов, с последующей реакцией диазотирования производных анилина и их азосочетания с N-(1-Нафтил)этилендиамином (схема 2).

Главным ограничением применения окислительно-восстановительных СФ реакции является присутствие в реальных пробах других восстановителей таких, как йодид и оксалат-ионы, аскорбиновая кислота, фенолы, другие гидразины, ионы олова (II) и железа (II) и др., способных вступать в реакции с реагентами и мешать определению.

Реакции дериватизации. Можно выделить три основные типа реакций дериватизации гидразинов, использующихся для их спектрофотометрического определения – это образование окрашенных комплексов, реакции нуклеофильного ароматического замещения, и образование гидразонов в результате реакций конденсации с карбонильными соединениями.

¹² Localized surface plasmon resonance (LSPR)

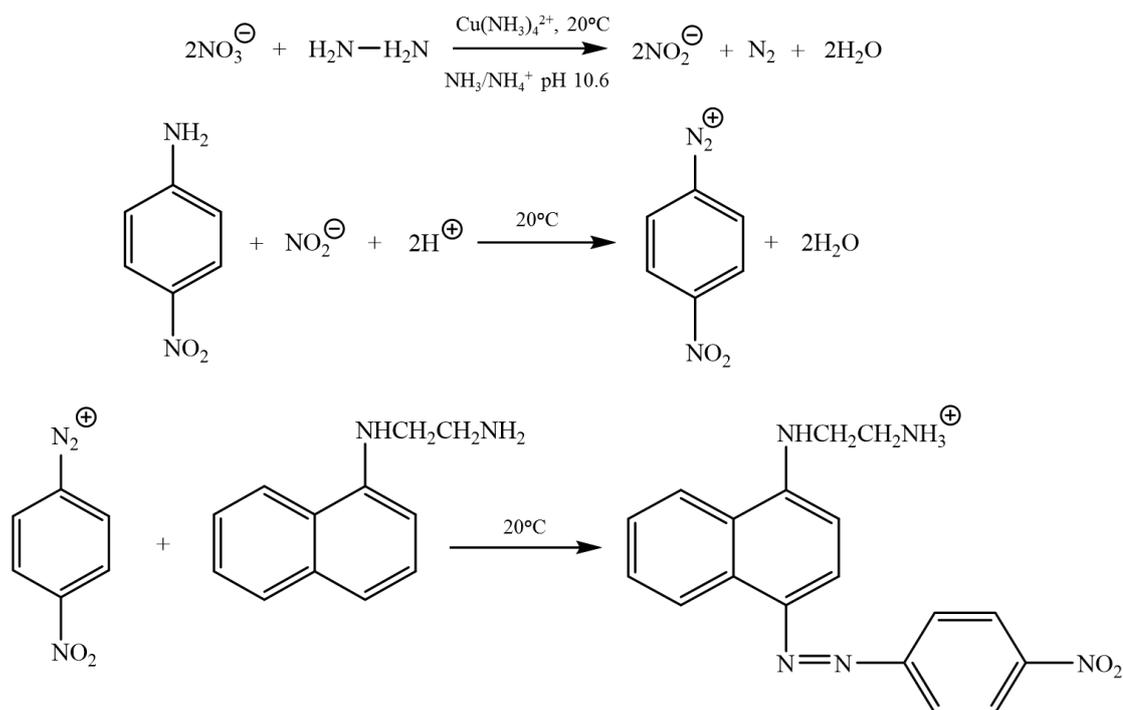


Схема 2. Схема химических превращений с применением азосочетания для СФ определения Ги [78]

Образования комплексов. Азотсодержащие нуклеофильные реагенты, в том числе гидразины, могут образовывать координационные (донорно-акцепторные) связи с атомами переходных металлов. Образование окрашенных комплексных соединений в этом случае использовали для определения гидразинов, однако работ, посвященных применению таких спектрофотометрических реакций, совсем немного. Известно всего несколько таких методик определения НДМГ в воде, воздухе, крови и моче, разработанных для ВВС США [80-83]. В основе лежит реакция обмена аммиака в пентацианоаминферрате (II) натрия на НДМГ с образованием нового комплекса, имеющего максимум поглощения при 480-500 нм. Очевидно, что присутствие других потенциальных лигандов в системе, таких как амины, другие гидразины, нитросоединения, производные пиридина и др., образующих аналогичные окрашенные комплексы, мешают определению НДМГ.

Реакции нуклеофильного ароматического замещения. Ароматические соединения с электроакцепторными заместителями, имеющие в структуре потенциальные уходящие группы (галогены, сульфогруппы и др.), вступают в реакции ароматического замещения с подходящим нуклеофилом [107]. Гидразины, подобно аминам, при определенных условиях могут участвовать в таких

спектрофотометрических реакциях, что используют для разработки методик их определения.

Нитропроизводные галогенбензолов – известные реагенты для дериватизации аминсоединений. Образование интенсивно окрашенного бис-тринитрофенилгидразина при взаимодействии Ги с пикрилхлоридом [84] использовали для определения Ги в воде (схема 3). Получение аналогичных производных с пикрилсульфоновой кислотой использовали для одновременного определения Ги и нескольких гидразидов в водных образцах [85].

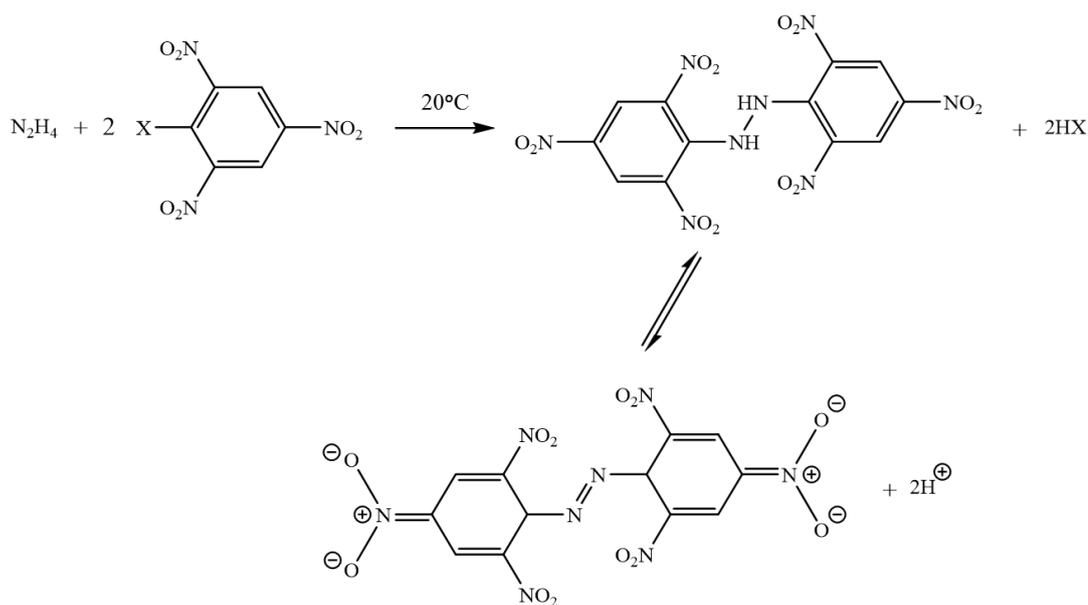


Схема 3. Реакция дериватизации Ги с пикрилпроизводными (X = Cl [84], SO₃H [85])

Кинетический СФ подход к определению Ги, МГ или НДМГ в питьевой воде, основанный на реакции гидразинов с 1X24ДНБ был предложен авторами работы [86]. Высвобождающаяся в реакции хлороводородная кислота связывается присутствующим полианилином, который переходит в кислую форму, меняя при этом окраску раствора с интенсивно синей до зеленой.

Неселективность реакций нуклеофильного ароматического замещения ограничивает применение соответствующих реагентов для дериватизации гидразинов.

Образование гидразонов. Реакции получения гидразонов часто используют для дериватизации гидразинов, с последующим их определением. Гидразоны способны образовывать только гидразины со свободной NH₂-группой, при этом Ги, как правило, реагирует сразу по двум аминогруппам, образуя азины (схема 4).

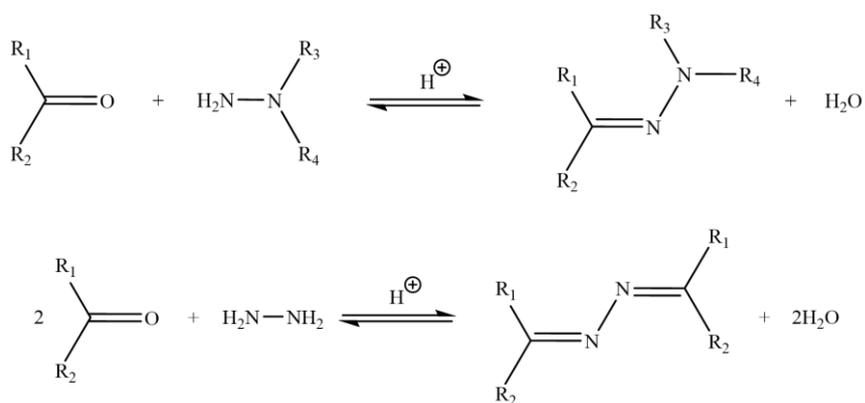


Схема 4. Реакции гидразинов с карбонильными соединениями

В качестве дериватизирующих реагентов обычно используют замещенные ароматические альдегиды, которые для увеличения выхода дериватов берут в значительном избытке по отношению к гидразинам, ввиду обратимости реакции.

Исторически первым и самым популярным на сегодняшний день реагентом для спектрофотометрического определения Ги и его гидразидов является 4ДАБ [87-99]. Реакцию с Ги проводят, как правило, в кислой среде, в присутствии избытка 4ДАБ (0.02 М или больше) в течении не более 20 мин. Образующийся 4-(диметиламино)бензалазин находится в кислотно-основном равновесии с хиноидной таутомерной формой, и в зависимости от кислотности конечного раствора имеет максимум поглощения в диапазоне 450-490 нм. Благодаря простоте и удобству применения 4ДАБ, а также достаточно высокой чувствительности СФ определения Ги, данную реакцию используют в методиках Американского общества по испытанию материалов¹³ для его определения на уровне 5-200 мкг/л в водных объектах различного типа [89].

Авторы работы [92] предложили оригинальный и достаточно селективный подход к определению Ги в воде, в котором совмещено получение 2,4-динитрофенилгидразина в результате реакции Ги с 1Х24ДНБ по механизму ароматического нуклеофильного замещения, с последующим получением гидразона с 4ДАБ и его спектрофотометрическим определением.

Для увеличения выхода гидразонов и скорости реакции дериватизации иногда применяют эффект мицеллярного катализа. Авторы работы [93] провели изучение реакции Ги и фенилГи с 4ДАБ в мицеллярной среде. Разница в скорости реакции Ги

¹³ American Society for Testing and Materials (ASTM)

и фенилГи с 4ДАБ и 4НБА в кислой среде в присутствии мицелл ДДСН дала возможность провести их одновременного определения в плазме, природных и питьевых водах с применением метода Н-PSAM [94]. Н-PSAM также применяли для одновременного кинетического СФ определения Ги и ацетилГи [95].

ПАВ можно использовать не только для того, чтобы ускорить образование и увеличить выход продуктов в реакции дериватизации, но и для их концентрирования. Так, в работе [96] применяли мицеллярную экстракцию в точке помутнения для определения Ги в биологических жидкостях и природной воде в виде производного с 4ДАБ, проводя реакцию в присутствии мицелл ДДСН и неионногенного ПАВ Triton X-114. В результате удалось добиться 10-кратного концентрирования компонентов, что позволило определять Ги от 0.5 мкг/л.

Применение сорбционного концентрирования и метода твердофазной спектрофотометрии для чувствительного определения Ги описано авторами работы [97]. Подход основан на адсорбции положительно заряженного продукта дериватизации Ги и 4ДАБ на поверхности катионообменника Dowex 50W×8 и измерением оптической плотности при 464 нм в фазе сорбента.

Регулятор роста растений малеиновый гидразид не может образовывать гидразоны с карбонильными соединениями, но в щелочной среде количественно гидролизует до Ги. Авторы работы [98] использовали щелочную дистилляцию с паром для определения данного регулятора в почве, тканях растений и животных в виде производного Ги с 4ДАБ.

Есть несколько примеров использования гетероциклических дериватирующих реагентов. В России НДМГ в образцах крови рекомендовано определять СФ методом по разработанной ФМБЦ¹⁴ методике, в основе которой лежит реакция дериватизации НДМГ гетероциклическим альдегидом 4ПА [100]. Похожий реагент 6Me2ПА был использован для определения изониазида в таблетках лекарственных средств [101].

Производные бензальдегида с донорными гидроксидными и метокси-заместителями использовали для определения Ги в объектах окружающей среды и биологических жидкостях [102, 103]. Для обоих реагентов авторы отмечают высокую селективность

¹⁴ Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна

и практически отсутствие мешающего влияния посторонних компонентов. Салициловый альдегид применяли для одновременного определения Ги и НДМГ в воде [104]. Бициклическим 2ГНА использовали для дериватизации Ги и жидкостно-жидкостной экстракции (ЖЖЭ) производного хлороформом для его СФ определения в водных образцах [105].

В одной из последних работ [106] был предложен 5Н2ФА для одновременного определения свободных форм Ги, МГ и НДМГ в кислотных экстрактах из почв. Реакция требует нагревания реакционной смеси до 60 °С в течении 40 мин. Достигнутые пределы обнаружения составили 5, 3 и 1.5 мкг/л соответственно.

Даже при всем разнообразии спектрофотометрических реакций и реагентов одним из основных недостатков спектрофотометрических методик определения гидразинов является низкая селективность. Многие соединения могут окисляться или дериватизироваться в тех же условиях, напрямую или косвенно влияя на величину аналитического сигнала СФ анализа реальных объектов. На сегодняшний день требуемая чувствительность СФ определения гидразинов на уровне гигиенических нормативов обеспечивается только при использовании дополнительных стадий предварительного концентрирования. Учитывая низкие значения коэффициентов концентрирования, потенциал повышения чувствительности ($<10^{-6}$ М) практически исчерпан, что создает необходимость развития других более селективных и чувствительных методов определения гидразинов.

1.2.1.2. Спектрофлуориметрия

Флуориметрические (ФЛ) методы по сравнению со спектрофотометрией характеризуются большей чувствительностью и селективностью. Однако более сложное и дорогостоящее аппаратное оформление, а также ограниченный выбор потенциальных люминофоров затрудняют разработку новых методик определения Ги и его производных [63]. В табл. 4 представлены известные способы ФЛ определение Ги и его производных.

Таблица 4. Флуориметрическое определение Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	$\lambda_{ex}^B/\lambda_{em}^Г$, нм	Объект	ЛДОК, мкг/л	C_{min} , мкг/л	Лит. источник
Ги	КВrO ₃ /КВr, Родамин Б	2 М Н ₂ SO ₄ , 40°C, 6 мин	556/578	Природные воды	3.49–78.8	0.81	[108]
Ги	4ДАБ	10 % ССl ₃ COOH, 70°C, 45 мин	466,546	Плазма	20-200	10	[109]
НДМГ	2НБА	CH ₃ COOH _{лед} , 100°C, 40 мин	350/430	Модельные растворы	50-800	–	[110]
	3НБА	CH ₃ COOH _{лед} , 100°C, 30 мин			20-200		
	4НБА	CH ₃ COOH _{лед} , 100°C, 20 мин			10-100		
	Коричный альдегид	CH ₃ COOH _{лед} , 100°C, 10 мин	360/530		1–10		
	5-фенил-2,4-пентадиеналь	CH ₃ COOH _{лед} , 100°C, 45 мин	440/520		500-5000		
Ги	5ХСА	CH ₃ COOH _{лед} , 20°C, 10 мин	400/570	Природные и питьевые воды	6.4-300	2.5	[111]
Ги	2ГНА	АБР pH 5.5, 100°C, 15 мин	416/512	Фармпрепараты	10-160	3.2	[112]
Ги	ОФА, меркаптоэтанол	ФБР pH 4-5, 20°C, 30 мин	340/495	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	5·10 ³ -2·10 ⁵	100	[113]
Ги	ОФА	ФБР pH 2.5, 20°C, 30 мин	318/376	Модельные растворы	–	1	[114, 115]
	НДА	ФБР pH 2.5, 20°C, 10 мин	403/500		0.05-500	0.05	
	АДА	ББР pH 11, 20°C, <1 мин	476/549		0.15-500	0.15	
МГ	НДА	ББР pH 9, 20°C, <1 мин	403/500		–	0.12	
НДМГ			403/500		–	40	

^а 2ГНА – 2-Гидрокси-1-нафталальдегид; 2НБА – 2-нитробензальдегид; 3НБА – 3-нитробензальдегид; 4ДАБ – 4-диметиламинобензальдегид; 4НБА – 4-нитробензальдегид; 5ХСА – 5-Хлорсалициловый альдегид; АДА – 2,3-Антрацендикарбальдегид; НДА – 2,3-Нафталиндикарбальдегид; ОФА – о-фталевый альдегид;

^б АБР – ацетатный буферный раствор; ББР – боратный буферный раствор; ФБР – фосфатный буферный раствор;

^в длина волны возбуждения; ^г длина волны испускания.

Известен простой и экспрессный способ косвенного определения Ги в природных водах, основанный на ингибирующем эффекте Ги в реакции окисления фотолуминофора родамина Б парой бромид/бромат в кислой среде [108]. Недостатком таких реакций является мешающее влияние других восстановителей, присутствующих в образце.

Наиболее популярным приемом, используемым для ФЛ определения гидразинов, является проведение их предварительной дериватизации ароматическими моно- и диальдегидами.

Некоторые производные гидразинов с производными БА обладают способностью к флуоресценции. Определение Ги в плазме крови в виде азина 4ДАБ предложено в работе [109]. Другими авторами исследована возможность применения 2НБА, 3НБА, 4НБА, а также 3-фенилпропеналя (коричный альдегид) и 5-фенил-2,4-пентадиеналя для дериватизации НДМГ и его ФЛ определения в водных растворах [110]. Высокой селективностью характеризуется реакция Ги с 5ХСА в уксуснокислой среде, что позволяет проводить его определение в воде на фоне 100-кратного избытка других АГ [111]. Значительная разница в интенсивности флуоресценции производных Ги и изониазида с бициклическим 2ГНА позволяет проводить определение примеси Ги в фармпрепаратах на основе изониазида [112]. Для извлечения Ги из таблетированных форм использовали 0.01 М соляную кислоту. Гидразоны моноальдегидов характеризуются сравнительно не высокими выходами флуоресценции, что позволяет проводить определение только на уровне нескольких мкг/л.

Другим и более распространенным типом реакций является получения полициклических производных, способных к флуоресценции, с применением диальдегидов. Так работе [113] предложили подход к определению Ги и аммиака в воде с предварительной дериватизацией ОФА в присутствии меркаптоэтанола, приводящей к циклизации и образованию производного изоиндола (схема 5). Для Ги реакцию проводят при рН 4-5, а для аммиака при рН 8. Авторы отмечают образование именно таких продуктов циклизации. Другие аминокислоты с NH_2 -группами, в том числе аминокислоты, амины и гидразины могут мешать определению.

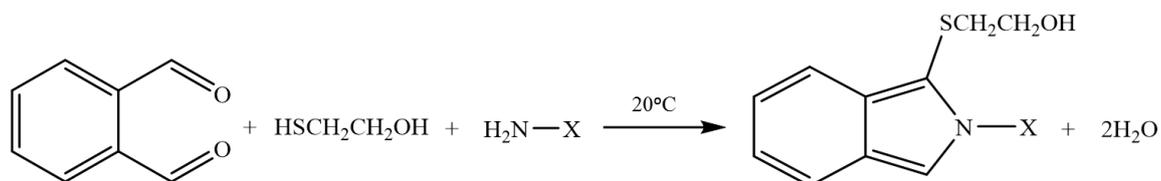


Схема 5. Реакция NH₂-соединений с ОФА в присутствии меркаптоэтанола [113]

Коллинс с соавторами [114, 115] исследовали возможность применения ароматических 2,3-диальдегидов, таких как ОФА, НДА и АДА для ФЛ определения Ги, МГ и НДМГ. Образование производных начинается с присоединения гидразина к молекуле реагента с последующей внутримолекулярной циклизацией без использования дополнительных нуклеофильных агентов. МГ и НДМГ образуют флуоресцирующие продукты только при взаимодействии с НДА в слабощелочной среде (схема 6). Дериваты флуоресцируют только в ионизированных формах, так, например производное Ги с НДА не флуоресцирует при pH > 4. Контролируя pH реакции, можно проводить одновременное определение Ги и АГ в смеси. Благодаря селективности реакции Ги с АДА, использование данного реагента позволяет проводить его определение даже в присутствии других гидразинов.

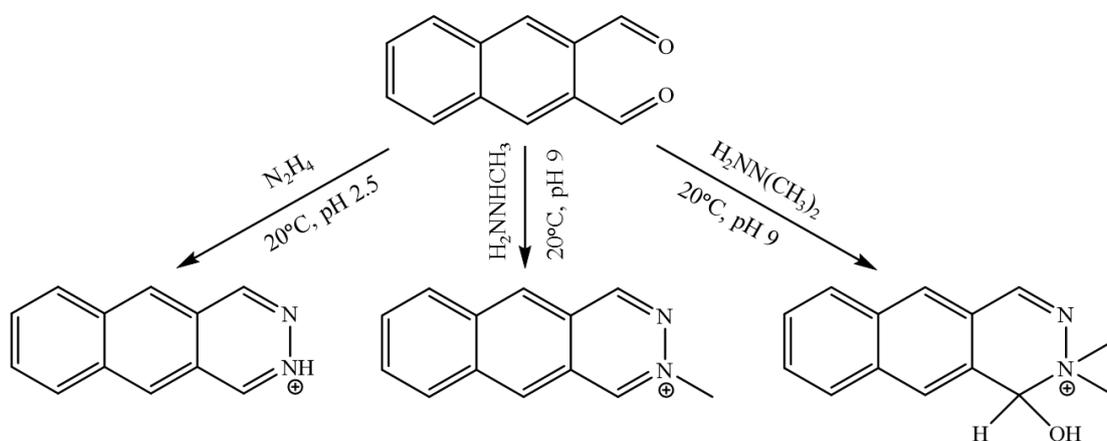


Схема 6. Дериватизация Ги, МГ и НДМГ с НДА [114, 115]

В течение последнего десятилетия появилось большое количество работ, посвященных применению флуоресцентных сенсорных систем для определения Ги *in vivo* и *in vitro*. Большой интерес к ним обусловлен простотой их использования, высокой селективности и чувствительности, биосовместимостью, а также возможностью визуализации распределения аналита в биологических объектах в реальном времени. Современному состоянию развития флуоресцентных гидразиновых сенсоров посвящено несколько обзорных работ [116-120].

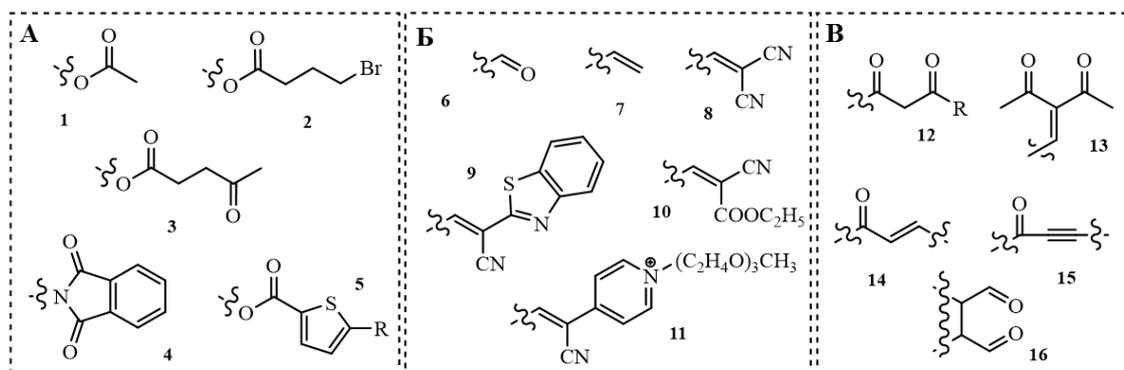
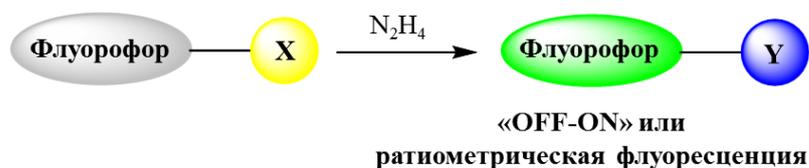


Рис. 1. Общий механизм превращений, применяемых в флуоресцентных сенсорах для определения Ги. А – группы защиты (1-5); Б – группы для химического преобразования (6-11); В – группы циклизации (12-16).

Принцип большинства предложенных на сегодняшний день сенсорных систем основан на реакциях между так называемыми «группами распознавания», связанных с флуоресцентными красителями, и Ги, который благодаря своим нуклеофильным свойствам может специфически реагировать с ними (снятие защиты, преобразование групп, циклизация и реакции раскрытия кольца) с появлением («OFF-ON») или изменением флуоресценции («рационаметрическая флуоресценция»¹⁵) [120]. Общий механизм превращений, применяемых в флуоресцентных сенсорах для определения Ги представлен на рис. 1. Реакции, как правило, проводят в водно-органических средах при близких к физиологическим условиям (нейтральном рН и температуре около 37°C).

Наиболее распространенным типом превращений, применяемых в гидразиновых сенсорах, является снятие защитных групп. В работе [121] проводили рационаметрического определение внутриклеточного Ги в результате гипсохромного сдвига кумаронового производного после снятия ацетильной защиты (1). Возникновение интенсивной флуоресценции после снятия защиты 4-бромбутирата (2) [122] и левулината (3) [123] использовали для визуализации распределения Ги в

¹⁵ Рационаметрическая флуоресценция (Ratiometric fluorescence) – это метод, в котором в качестве аналитического сигнала используется отношение интенсивности двух или более длин волн спектра возбуждения или излучения.

раковых клетках. Фталимидная защита (4) и 2-тиофенкарбонильная защита (5) применялись для получения «OFF-ON»-флуорофоров авторами работ [124, 125].

Химическое преобразование групп является еще одним популярным принципом гидразиновых сенсоров. Как правило, в структуру таких сенсоров входят терминальные двойные связи или различные электроноакцепторные группы, которые в результате реакции с Ги образуют гидразоны. Ратиометрические сенсорные системы с малонитрильными группами (8) [126] и (10) [127] были использованы для визуализации распределения Ги в раковых клетках. С той же целью авторы работы [128] применяли «OFF-ON»-двухфотонный сенсор с бензотиазолацетонитрильной группой (9). Другой ратиометрический сенсор с группой 11 применили для наблюдения за процессом распределения Ги у рыбок данио в режиме реального времени [129]. Примеры применения сенсоров для обнаружения Ги с альдегидной группой (6) и терминальной двойной связью (7) представлены в работах [130, 131].

В органическом синтезе α,β -ненасыщенные и 1,3-дикарбонильные соединения хорошо известны как предшественники флуорофоров семейства пиразолов и фталазинов, образующихся в результате реакций циклизации с Ги. Образованию пиразолового цикла в присутствии Ги кумаринового сенсора с трифторзамещенной енольной группой (12) использован для экспрессного ратиометрического определения Ги в растворах [132]. Схожая реакция лежит в основе работы «OFF-ON»-сенсора с группой 13, который применяли для визуализации распределения Ги в личинках дрозофилы в режиме реального времени [133]. Авторами работы [134] предложен трехэлементный «OFF-ON»-сенсор с халконовой группой (14), селективной к Ги и H_2S , и фенилтиобензоатной группой, чувствительной к Hg^{2+} . Тест-полоски на основе данной сенсорной системы использовали для экспрессного определения Ги, H_2S и Hg^{2+} в питьевых водах. Применение «OFF-ON»-сенсора с иноновой группой (15) для определения Ги в природных и питьевых водах и визуализации его распределения в раковых клетках описано в работе [135]. Авторами работы [136] предложено использование 4-диметиламинофталевого альдегида (16) для определения Ги в питьевых и минеральных водах.

Образование водородных связей может изменять электронную конфигурацию взаимодействующих молекул и тем самым их спектральные свойства. Водородные связи атомов водорода Ги с C=N- центрами сенсора препятствуют процессу фотоиндуцированного переноса электронов¹⁶, что приводит к значительному усилению интенсивности флуоресценции. Данный эффект лежит в основе принципа работы «OFF-ON» флуоресцентного сенсора для определения Ги в воде и моче, предложенного в работе [137].

Другой многократный «OFF-ON»-сенсор предложен авторами работы [138], основанный на возникновении флуоресценции тетрафенилэтиленового флуорофора после его восстановления Ги. Система может быть легко регенерирована кислородом воздуха. Сенсор использовали для визуализации распределения внутриклеточного Ги в раковых клетках.

Для большинства вышеупомянутых ФЛ-сенсоров пределы обнаружения Ги варьируются от сотых долей до единиц мкг/л. Чувствительность же определяется их типом, природой групп распознавания и механизмом флуоресценции. Как правило, «OFF-ON»-сенсоры характеризуются более низкими значениями C_{min} , чем ратиометрические, однако последние позволяют проводить определение в более широком диапазоне концентраций с лучшей воспроизводимостью.

С помощью применения спектрофлуорометрических методов удается достичь более низких пределов обнаружения гидразинов, чем в случае спектрофотометрических, однако они обладают недостаточной селективностью для определения следовых количеств гидразинов в сложных матрицах реальных объектов.

Недавно предложенные сенсорные системы при всем их разнообразии имеют ряд недостатков и ограничений, таких как высокая чувствительность к условиям измерений и неудовлетворительная воспроизводимость, необходимость использования большого количества органических растворителей и узкий ЛДОК, а также их труднодоступность широкому кругу лабораторий. Поэтому на текущем этапе своего развития их применение ограничено специфическими

¹⁶ Photoinduced electron transfer (PET)

биомедицинскими исследованиями. Кроме того, на данный момент отсутствуют данные о применении сенсоров для обнаружения или определения АГ.

1.2.1.3. Проточно-инжекционные методы

Необходимость автоматизации и повышения экспрессности в рутинном анализе послужила толчком для развития методов проточно-инжекционного анализа (ПИА). Современные проточно-инжекционные системы позволяют проводить концентрирование и спектрофотометрические реакции непосредственно в потоке, что обеспечивает возможность автоматизации всех стадий анализа в одной системе. Регулирование селективности и чувствительности определения путем выбора реагента и условий детектирования. Уменьшению трудоемкости определения, сокращению его продолжительности и большая воспроизводимость анализа являются главными преимуществами проточно-инжекционных систем [139]. Известные ПИА подходы к определению Ги и его производных представлены в табл. 5.

Некоторые подходы к косвенному определению гидразинов реализованы в варианте ПИА метода. Так, в работах [140, 141] предложено определения Ги в воде методом ПИА-СФ, основанное на его ингибирующем действии на процесс обесцвечивания гетероциклических красителей в результате их реакции с подходящим окислителем в потоке.

Дериватизация Ги и его производных в потоке также нашла широкое применение для их определения методом ПИА-СФ. Образование бензалазина в потоке использовали для экспрессного определения Ги в воде [142-145]. Высокие значения коэффициента поглощения и скорости реакции обеспечили возможность проводить определение Ги от 2-50 мкг/л и производительность до 350 проб/ч. В случае применения ванилина из-за низкой скорости дериватизации Ги анализ проводили на низкой скорости потока носителя 0.1 мл/мин, что сказалось на производительности – всего 6 проб/ч [146]. Получение в потоке производных гидразидов некоторых ароматических кислот в реакции нуклеофильного замещения с 4-хлор-5,7-динитробензофуразаном (ХДНБФ) лежит в основе их определения методом ПИА-СФ [147].

Таблица 5. Проточно-инжекционное определение Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент	Поток носителя, мл/мин	Детектирование		Объект	ЛДОК, мкг/л	С _{min} , мкг/л	Производительность, проб/ч	Лит. источник
			Тип	Условия					
Ги	Пирогаллоловый красный/IO ₃ ⁻	14 мл/ч	СФ ^б	470 нм	Природные и питьевые воды	50-1200	30	15	[140]
Ги	Тионин/NO ₂ ⁻	0.5	СФ	602 нм	Природные и питьевые воды	200-40000	100	35	[141]
Ги	4ДАБ	19.5	СФ	460 нм	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	20-100	–	350	[142]
Ги	4ДАБ	0.8	СФ	455 нм	Модельные растворы	25-300	–	100	[143]
	–		ИСЭ ^в	–		50-300	–	24	
Ги	4ДАБ	0.4	СФ	460 нм	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	50-10000	16	15	[144]
Ги	4ДАБ	0.7	СФ	460 нм	Подпиточная вода теплоэнергетических установок, сточные и природные воды	2-100, 100-1500	0.016	24	[145]
Ги	4ГЗМБА (Ванилин)	0.1	СФ	400 нм	Модельные растворы	10-1000	–	6	[146]
R-CO-NH-NH ₂	ХДНБФ	1.2	СФ	510 нм	Плазма, моча, фармпрепараты	15-4000	–	28-32	[147]
Ги	СЮ ⁻ , Ni ²⁺	1	ХЛД ^г	–	Модельные растворы	–	0.5 нМ	–	[148]
Ги	Люминол/Pt _{колл.} (p-p)	1.8	ХЛД	–	Воздух	10-2000 мг/м ³	–	–	[149]
Ги	Люминол/Au _{колл.} (p-p)	2	ХЛД	–	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	0.1-30 нМ	30 нМ	–	[150]
Ги	Люминол/BrO ⁻	–	ХЛД	–	Природные и питьевые воды	10-10000	3	60	[151]
Ги	Люминол/K ₃ [Fe(CN) ₆]	1.5	ХЛД	–	Воздух	500-10000	–	–	[152]
Ги	Дихлоризоцианурат натрия/ДХФ	3.8	ХЛД	–	Питьевые воды	0.5-100 мкМ	200 нМ	65	[153]
	Трихлоризоциануровая к-та/ДХФ					0.5-60 мкМ			
Ги	N-бромсукцинимид/ДХФ	2	ХЛД	–	Питьевые воды	1-50 мкМ	500 нМ	60	[154]
Ги	Люминол	2.5	ЭХЛ ^а	+0.5 В	Сточные и питьевые воды	20-50000 нМ	6 нМ	–	[155]

Таблица 5 (продолжение). Проточно-инжекционное определение Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент	Поток носителя, мл/мин	Детектирование		Объект	ЛДОК, мкг/л	С _{min} , мкг/л	Производительность, проб/ч	Лит. источник
			Тип	Условия					
Ги	–	1	АД ^с	+0.7 В	Модельные растворы	0.6-50 мкМ	0.048 нг/20 мкл	–	[156]
Ги	–	0.8	АД	+0.2 В	Табачная продукция	5-3000 мкМ	136 нМ	–	[157]
Ги	–	1	АД	+0.1 В	Фармпрепараты	1-100 мкМ	64.5 нМ (0.27 мг/кг)	–	[158]
Ги	–	1.2	АД	+0.3 В	Природные и питьевые воды	0.25–250 мкМ	0.07 мкМ	–	[159]
Ги	–	2.4	АД	+0.1 В	Природные и питьевые воды	0.25-500 мкМ	0.08 мкМ	–	[160]
Ги	–	5.2	АД	+0.05 В	Природные и питьевые воды	0.01-100 мкМ	2 нМ	–	[161]

^а 4ГЗМБА – 4-гидрокси-3-метоксибензальдегид (ванилин); 4ДАБ – 4-диметиламинобензальдегид; ДХФ – Дихлорфлуоресцеин; ХДНБФ – 4-Хлор-5,7-динитробензофуразан;

^б спектрофотометрическое; ^в ион-селективный электрод; ^г хемилюминесцентный детектор; ^д электрогенерированная хемилюминесценция; ^е амперометрический детектор.

Широкое применение получил хемилюминесцентный (ХЛ) ПИА метод определения гидразинов. В качестве детекторов используют специальные устройства, состоящие из реакционной ячейки и фотоприемника, способного регистрировать слабый световой поток хемилюминесценции. Для генерации люминесценции используют реакции окисления Ги подходящими окислителями, например гипогалогенитами [148], в том числе электросгенерированными [151], или гексацианоферратом (III) калия [152], с образованием триплетного азота, который испускает фотон при переходе в основное состояние. Если же в роли окислителя выступает растворенный кислород из воздуха, то такие реакции как правило, катализируют, используя коллоидные частицы платины [149] или наночастицы золота [150], а образующиеся в результате перекисные радикалы вызывают свечение хемилюминесценции присутствующего в системе люминола.

Галогенизоцианураты являются источниками гипогалогенитов в водном растворе. В работе [153] исследовалась возможность применения дихлоризоцианурата натрия и трихлоризоциануровой кислоты для определения Ги в питьевой воде. Молекулярный азот в возбужденном состоянии, образующийся в результате реакции окисления Ги, передает энергию присутствующему дихлорфлуоресцеину, вызывая его хемилюминесценцию (схема 7). Применение другого источника активного галогена N-бромсукцинимидо описано в работе [154].

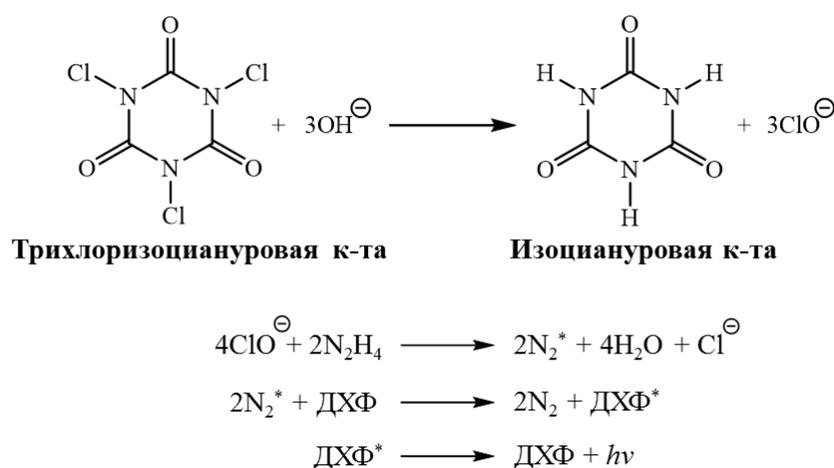


Схема 7. Предполагаемый механизм хемилюминесценции в результате окисления Ги трихлоризоциануровой кислотой с участием дихлорфлуоресцеина (ДХФ) [153]

Генерацию хемилюминесценции также можно осуществить и электрохимически. В присутствии Ги значительно катализируется электроокисление люминола на платиновом электроде, что приводит к

закономерному увеличению интенсивности флуоресценции. В работе [155] использована такая электрогенерация хемилюминесценции для высокочувствительного определения Ги в сточных и питьевых водах методом ПИА-ХЛД. Преимуществом данного подхода является возможность управлением селективностью процесса, варьируя приложенный потенциал. Кроме того, не требуется использование дополнительных реагентов (окислителей).

Не меньшую популярность для определения гидразинов получил ПИА метод с электрохимическим детектированием. Важным преимуществом использования данного варианта детектирования является отсутствие необходимости использования дополнительных реагентов и проведения реакций в потоке.

Потенциометрическое детектирование с ионоселективным электродом применили для определения Ги в водных растворах [143]. При схожих со спектрофотометрическим детектированием метрологических характеристиках, главным недостатком этих детекторов является медленный отклик электродов, что значительно снижает производительность такой системы ПИА.

Большее распространение получили амперометрические детекторы (АД). Однако, электрохимическое окисление Ги и АГ на угольных электродах происходит медленно и требует приложения высоких потенциалов ($> +1.0$ В), при которых могут неселективно окисляться другие восстановители, присутствующие в пробе. Электроды из благородных металлов относительно дороги и менее доступны. Поэтому широкое применение нашли модифицированные электроды, которые благодаря эффективности каталитического переноса электронов позволяют проводить окисление гидразинов при более низких значениях приложенного потенциала. Помимо этого, такие детекторы характеризуются быстрым откликом, высокой чувствительностью, низкой стоимостью и простотой эксплуатации.

Наноматериалы на основе углерода, наночастицы металлов и их оксиды, благодаря своим электрокаталитическим свойствам, являются часто используемыми модификаторами при изготовлении рабочих электродов. Стеклоуглеродный электрод, модифицированный смешанным оксидом рутения и свинца на матрице нафiona и катионо-обменного полимера перфторсульфоната, позволяет проводить детектирование Ги при $+0.7$ В [156]. Электрохимический детектор на основе электрода из стеклоуглерода, иммобилизованного кверцитином с многослойными

углеродными нанотрубками в качестве связующего, предложили авторы работы [157] для определения Ги в табачной продукции методом ПИА ($E_{1/2} < +0.2$ В).

Другие добавки и покрытия поверхности электрода позволяют тонко влиять на селективность или чувствительность определения целевых компонентов. Применение алмазного микроэлектрода, иммобилизованного наночастицами платины, позволило авторам работы [158] провести селективное определение примеси Ги в фармпрепаратах в присутствии избытка электроактивного ацетаминофена. Модифицированные комплексом меди (II) с неocupроином [159], пирокатехиновым фиолетовым [160] и электроосажденными наночастицами золота [161] графитовые стержневые электроды применяли для высокочувствительного определения Ги в питьевых и природных водах методом амперометрического ПИА при низких значениях приложенного потенциала ($E_{1/2} < +0.3$ В).

Таким образом, ПИА подходы к определению гидразинов с электрохимическими детекторами оказываются предпочтительнее применения спектроскопических, предполагающих использование дополнительных реагентов для проведения реакций в потоке, причем выход продукта такой реакции может не достигать 100%. Однако, несмотря на автоматизацию и экспрессность, а также успехи в области инструментального оформления ПИА систем, главными недостатками метода являются недостаточная селективность и отсутствие возможности одновременного определения нескольких аналитов. Эти недостатки можно преодолеть с помощью методов, обеспечивающих предварительное разделение компонентов пробы, например хроматографических методов.

1.2.2. Хроматографические методы

Современные хроматографические методы позволяют проводить высокоэффективное разделение компонентов с одновременным определением качественного и количественного состава объектов. Среди многих аналитических методов, хроматография, благодаря высокой селективности, чувствительности и надежности, хорошо зарекомендовала себя в определении следовых количеств гидразинов в объектах со сложной матрицей, таких как продукты фармацевтической

промышленности и питания, биологические жидкости и объекты окружающей среды [162].

1.2.2.1. Газовая хроматография

Газовая хроматография (ГХ) начала активно развиваться и внедряться в аналитическую практику с середины 50-х годов, быстро став неотъемлемым инструментом почти в каждой лаборатории [163]. Сегодня ГХ нашла очень широкое применение в анализе всевозможных объектов, в том числе для определения суперэкоотоксикантов, таких как гидразины.

Прямое ГХ определение Ги и АГ осложнено из-за их высокой реакционной способности, полярности, термолабильности, и склонности к окислению. Определение гидразинов в нативной форме методом капиллярной ГХ (КГХ) затруднено ввиду слабого удерживания и размывания хроматографических зон в результате сильных полярных взаимодействий с силанольными группами кварцевой подложки.

Известно несколько примеров одновременного определения НДМГ и продуктов его трансформации в растворах с использованием наполненных колонок с полимерными сорбентами на основе сополимеров дивинилбензола Chromosorb 103 [164] и HayeSep C [165, 166] в варианте газо-твердофазной хроматографии, а также полигликолевыми фазами Pennwalt 223 [52] и Carbowax 20M [167] в методе газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ). Для улучшения формы хроматографических пиков фазы модифицировали добавкой щелочи (1-10 масс. %). Капиллярные колонки с полиэтиленгликолевой (ПЭГ) неподвижной фазой INNOWAX применяли в исследованиях трансформации НДМГ в почвах [168, 169]. Ввиду низкой эффективности нативных и неудовлетворительных хроматографических характеристик капиллярных колонок с полярными фазами варианты прямого определения гидразинов низкоселективны и недостаточно чувствительны. Для того чтобы устранить недостатки прямого ГХ определения Ги и АГ очень часто прибегают к использованию их предварительной дериватизации с последующим определением производных.

Дериватизация в хроматографии за счет большого выбора дериватизирующих реагентов является широко используемым инструментом, позволяющим улучшить

устойчивость аналитов, улучшить разделение и характеристики детектирования, а также надежность их идентификации [170]. В качестве реагентов для дериватизации гидразинов применяют, как правило, производные ароматических карбонильных соединений или кислот. Тут стоит отметить, что поскольку гидразины – это высокополярные соединения, водные растворы для них являются эффективными экстрагентами из различных объектов. Продукты дериватизации представляют собой неполярные или малополярные соединения с относительно высокой температурой кипения, что обеспечивает приемлемое удерживание на неполярных стационарных фазах и лучшую растворимость в органических растворителях (хлористый метилен, бензол, гексан, этилацетат), которые используют для их экстракции из реакционной смеси. При этом для устранения мешающего влияния матрицы всегда необходимо проведение многостадийной сушки и очистки пробы или экстракта на силикагелях или ионообменных сорбентах. На этапе получения производных возможна замена растворителя с одновременным концентрированием компонентов упариванием растворителя или применением других методов концентрирования.

Применение того или иного детектора для выигрыша в чувствительности определяется выбором подходящего дериватизирующего реагента, или наоборот. Например, получение производных гидразинов с пентафторбензоилхлоридом (ПФБХ), с последующим его ГХ определением с детектором электронного захвата (ДЭЗ), высокоселективного к атомам галогенов, позволяет их определять на уровне порядка долей мкг/л (схема 8) [55, 174]. Наличие атомов азота гидразинового или гидразидного фрагментов в составе производных дает возможность использовать для их определения селективный азотно-фосфорный (термоионный) детектор (АФД). Универсальный пламенно-ионизационный детектор (ПИД), также широко используется для определения гидразинов, благодаря быстрому отклику, стабильности сигнала, широкому линейному диапазону и доступности широкому кругу лабораторий. Основные подходы к ГХ определению гидразинов представлены в табл. 6.

Таблица 6. Подходы к реакционному ГХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Экстрагент	Исх. проба	V _{кон. в} , мл	V _{в.п. г} , мкл	Колонка ^д	Детектор	C _{min}	Объект	Лит. источник
Ги	2,4-пентандион	рН 6-9, 20°C, 1 ч	–	100 мл	100	5	17% Amine 220/ Anakrom ABS	ПИД	100 ^е мкг/л	Модельные растворы	[171]
МГ											
Ги	4ХБА	рН 3 НСl, 20°C, 30 мин	1. CH ₂ Cl ₂ 2. Этилацетат	25 мл	3	1	10% OV-17/ Gas-Chrom Q	АФД	400 мкг/л	Моча	[172]
Изониазид									200 мкг/л		
Ги	Ацетон	ФБР рН 5, 20°C, 2 мин	CH ₂ Cl ₂	100 мл	3	–	10% EGA/ Chromosorb W	АФД	0.1 мкг/л	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	[173]
Ги	ПФБХ	ФБР рН 3.5, 20°C, 30 мин	Гексан	5 г	10	5	2% PBS/ Chromosorb W	ЭЗД	5 ^е мкг/кг	Клубни картофеля	[174]
Ги	2ФА	АБР, 20°C, 6 мин	Этилацетат	15 л	1	40	10% OV-7/ Supelcoport	ПИД	20 ^е мкг/м ³	Воздух	[175]
НДМГ									40 ^е мкг/м ³		
НДМГ	ПФБХ	КБР, 20°C, 1 ч	1. CH ₂ Cl ₂ 2. Гексан	5 г	100	5	5% PBS/ Chromosorb W	ЭЗД	10 мкг/кг	Мякоть яблок	[55]
Даминозид									25 мкг/кг		
Ги	ПФБА	АБР, 20°C, 12 ч	Гексан	0.36 г	25	3	5% OV-225/ Chromosorb W	ЭЗД	50 мкг/кг	Малеиновый гидразид	[176]
Ги	БА	рН не контролировался, 20°C, 30 мин	Гептан	50 мг	10	1	2% OV-101/ Chromosorb G	АФД	3 мг/кг	Фармпрепараты	[177]
Ги	Ацетон	АБР, 20°C, 5 мин	Ацетон	2 л	2	3	4% Carbowax 20M, 0.8% KOH/ Carbopack B	ХЛД	4 мкг/м ³	Воздух	[178]
МГ									6 мкг/м ³		
НДМГ									8 мкг/м ³		
Ги	БТФА	0.1 М НСl, 65°C, 30 мин	Гептан	20 мг	15	1	2% OV-101/ Chromosorb G	АФД	20 мг/кг	Фармпрепараты	[18]
Бензил-гидразин									200 мг/кг		
НДМГ	2НБА	АК рН 5, 30°C, 2 ч	Бензол	100 г	5	5	10% SP-1000/ Supelcoport	ЭЗД	1 мкг/кг	Фрукты	[179]
НДМГ	2НБА	ФБР рН 6, 30°C, 2 ч	Бензол	10 г	20	2	5% GE-XE60/ Chromosorb W	ЭЗД	3 мкг/кг	Фрукты, соки	[180]
Даминозид									9 мкг/кг		

Таблица 6 (продолжение). Подходы к реакционному ГХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Экстрагент	Исх. проба	V _{кон. в} , мл	V _{в.п. г} , мкл	Колонка ^д	Детектор	C _{min}	Объект	Лит. источник
Даминозид	2НБА	АК рН 5, 50°С, 1 ч	Бензол	20 г	1	3	10% SP-1000/Supelcoport	ЭЗД	0.05 мкг/кг	Фрукты, соки	[181]
Ги	Ацетон	ФБР, 20°С, 1 ч	CH ₂ Cl ₂	50 мл	0.5	2	10% Carbowax 20M, 1.8% KOH/Chromosorb W	АФД	0.1 мкг/л	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	[182]
Ги	ТФТБ	рН не контролировался, 20°С, 5 мин	–	1 мл	2	2	10% SE-30/Chromosorb W	ПИД	50 мкг/л	Модельные растворы	[183]
МГ									100 мкг/л		
Ги	БА	рН 7, 70°С, 30 мин	Бензол	1 мл	2	–	OV-17	МС, m/z 10-280	0.1 мг/л	Моча	[184]
МГ	1. ПФБА 2. ПФПА	1. рН 6.9, 20°С, 30 мин 2. рН 6.9, 70°С, 30 мин	1. Этилацетат 2. Толуол	0.6 мл	0.6	1	DB-5	ЭЗД	2 мкг/л	Кровь	[185]
Изониазид	БА	ЦБР рН 6, 20°С, 1 ч	1. CH ₂ Cl ₂ 2. Этилацетат	2.5 мл	0.1	1	OV-17	МС, m/z 209	5° мкМ	Сыворотка крови	[186]
АцетилГи								МС, m/z 163	0.1° мкМ		
НДМГ	ПФБХ	КБР, 20°С, 30 мин	Гексан	5 г	50	1	DB-5	ЭЗД	0.038 мкг/кг	Фрукты, соки	[187]
Даминозид	СА	рН не контролировался (АБР рН 5-6), 50°С, 1.5 ч	CH ₂ Cl ₂	50 г	4	2	OV-1701	МС, m/z 164	10 (5) мкг/кг	Арахиса, арахисовое масло	[188] ([189])
НДМГ	ПФБХ	КБР, 20°С, 1 ч	1. CH ₂ Cl ₂ 2. Толуол	5 г	5	1	SE-54	МС, m/z 448	2 мкг/кг	Яблочный сок	[190]
Даминозид									10 мкг/кг		
Даминозид	2НБА	ЦБР рН 5, 20°С, 2 ч	Толуол	100 г	2	–	DB-5	МС, m/z 193	0.4 мкг/кг	Фрукты	[191]
Даминозид	2НБА	АК, 30°С, 2 ч	Триметилпентан	10 г	2	8	DB-1701	АФД	1.9 мкг/кг	Фрукты	[192]
Ги	БА	рН не контролировался, 20°С, 5 мин	Гептан	50 мг	20	3	OV-101	АФД	1 мкг/кг	Фармпрепараты	[193]

Таблица 6 (продолжение). Подходы к реакционному ГХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Экстрагент	Исх. проба	V _{кон} ^в , мл	V _{в.п.} ^г , мкл	Колонка ^д	Детектор	C _{min}	Объект	Лит. источник
Ги	БА	рН не контролировался, 20°C, 30 мин	Гептан	1.3 г	0.2	0.3	DB-5	АФД	10 мкг/кг	Фармпрепараты	[194]
Ги	ПФБА	ЦБР рН 5, 20°C, 30 мин	CHCl ₃	0.9 мл	15	2	OV-1	МС, m/z 388	2.5 мкг/л	Плазма, моча, ткани печени	[195]
Ги	ПФБА	АБР, 20°C, 1 ч	Гексан	2 г	2	2	ZB-5	МС, m/z 388	10 нг/г	Табачные продукты	[54]
НДМГ	4НБА	ЦБР рН 5.5, 40°C, 30 мин	Гептан	100 мл (100 г)	0.2	1	DB-5MS	МС, m/z 193	0.2 ^е мкг/л(мкг/кг)	Поверхностные грунтовые, питьевой воды и почвы	[196]
НДМГ	4НБА	ЦБР рН 5.5, 35°C, 30 мин	Гексан	100 мл	0.2	10	SE-54	АФД	0.03 ^е мкг/л	Питьевые, природные и сточных воды	[197, 198]
НДМГ	4НБА	АБР рН 5.5, 35°C, 30 мин	Гексан	25 г	0.2	10	ZB-5	АФД	10 ^е мкг/кг	Почва	[199]
Ги	БА	1М HCl рН 2-4, 20°C, 20 мин	Гексан	50 мл	1	2	HP-5	ПИД	5 ^е мкг/л	Питьевые, природные и сточных воды	[200]
НДМГ	2НБА	ЦБР рН 5, 20°C, 1 мин	CH ₂ Cl ₂	10 мл (5 г)	1	-	DB-5	МС, m/z 193	2 ^е мг/л (мг/кг)	Модельные растворы, почва	[201]
	4НБА							МС, m/z 193			
	4ХБА							МС, m/z 182			
	4ЦБА							МС, m/z 173			
	4ДАБ							МС, m/z 191			
	БА							МС, m/z 148			
	2ФА							МС, m/z 97			
МГ	ПФБХ	КБР, 20°C, 1 ч	CH ₂ Cl ₂	1.7 г	45	1	HP-5MS	МС, m/z 195	0.3 мг/кг	Грибы	[202]
Ги	ЭХФ	КБР рН 9/ пиридин, 20°C, 1 ч	1. CHCl ₃ 2. Этанол	1 г (мл)	0.2	1	HP-5	ПИД	170 пг	Фармпрепараты	[203]
Изониазид									180 пг		
Ги	ТФАА	1М HCl рН 2, 75°C, 15 мин	1. CHCl ₃ 2. Метанол	1 г (мл)	0.2	1	HP-5	ПИД	62.5 пг	Фармпрепараты, сыворотка крови	[204]
Изониазид											
МГ	Ацетон	рН не контролировался, 20°C, < 2 мин	Ацетон	-	-	2	Rtx-5 Amine	МС, m/z 86	1 мг/кг	Фармпрепараты	[205]

Таблица 6 (продолжение). Подходы к реакционному ГХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Экстрагент	Исх. проба	V _{кон} ^в , мл	V _{в.п.} ^г , мкл	Колонка ^д	Детектор	C _{min}	Объект	Лит. источник
НДМГ	ЭИТЦ	рН не контролировался, 20°C, 1 ч	CH ₂ Cl ₂	–	10	1	DB-5	МС, m/z 59	–	Модельные растворы	[206]
	АИТЦ							МС, m/z 115			
Ги	ОФА	1М HCl pH 2, 70°C, 20 мин	1. CH ₂ Cl ₂ 2. Метанол	5 мл	0.1	2	HP-5MS	МС, m/z 130	2 нг/л	Питьевые, природные и сточных воды	[207]
Ги	Ацетон	БК, 100°C, 30 мин	ПФА			500	DB-624	МС, m/z 112	0.1 ^е мг/кг	Фармпрепараты	[208]
НДМГ	Ацетон	рН не контролировался, 25°C, 10 мин	ТФМЭ				DB-WAXetr	МС, m/z 100	0.02 мг/л	Водные объекты	[209]
Ги	Ацетон	ФБР pH 5, 20°C, 30 мин	CH ₂ Cl ₂	250 мл	1	2	Rtx-5Sil MS	МС/МС, m/z 113→56	0.7 нг/л	Питьевая вода	[210]
Ги	ПХФ	КБР pH 9/ пиридин, 20°C, 15 мин	ТФМЭ				TR-5MS	МС/МС, m/z 204→76	4.4 нг/л	Питьевая вода	[211]
Ги	ТФПД	КБР pH 9.5, 80°C, 40 мин	ТФМЭ				HP-5MS	МС/МС, m/z 150→130	2 нг/л	Сточных воды	[212]

^а 2НБА – 2-нитробензальдегид; 2ФА – 2-фуральдегид (фурфурол); 3НБА – 3-нитробензальдегид; 4ДАБ – 4-диметиламинобензальдегид; 4НБА – 4-нитробензальдегид; 4ХБА – 4-хлорбензальдегид; 4ЦБА – 4-цианобензальдегид; АИТЦ – алилизотиоцианат; БА – бензальдегид; БТФА – бензоилтрифторацетон; ОФА – о-фталевый альдегид; ПФБА – пентафторбензальдегид; ПФБХ – пентафторбензоилхлорид; ПФПА – пентафторпропионовый ангидрид; ПХФ – пропилахлорформиат; СА – салициловый альдегид; ТФАА – трифторацетилацетон; ТФПД – 1,1,1-трифтор-2,4-пентандион; ТФТБ – 3-бутенон (Е) -1,1,1-три-фтор-4-(3-тиенил); ЭИТЦ – этилизотиоцианат; ЭХФ – этилахлорформиат;

^б АБР – ацетатный буферный раствор; АК – аскорбиновая к-та; БК – бензойная к-та; КБР – карбонатный буферный раствор; ФБР – фосфатный буферный раствор;

^в объем конечной пробы; ^г объем вводимой пробы;

^д носители для насадочных колонок: диатомитовые (Anakrom ABS, Gas-Chrom Q, Chromosorb W, Chromosorb G, Supelcoport), графитизированные сажи (Carbopack B); неподвижные фазы на основе: (1-Оксиэтил-2-гептадеценил)имидозолин (Amine 220), ПЭГ (Carbowax 20M, DB-WAXetr), полибутилен сукцинат (PBS), адипат этиленгликоля (EGA), сополимер нитротерефталевой к-ты и ПЭГ (SP-1000), 100% полидиметилсилоксан (OV-101, OV-1), 5% дифенил/95% полидиметилсилоксан (DB-5, DB-5MS, ZB-5, HP-5, HP-5MS, TR-5MS, Rtx-5Sil MS, Rtx-5 Amine), 6% цианопропилфенил/94% полиметилсилоксан (DB-624), 14% цианопропилфенил/86% полиметилсилоксан (OV-1701, DB-1701), 20% фенилметил/80% полидиметилсилоксан (OV-7), полидифенилдиметилсилоксан (SE-54), 50% цианопропилметил/50% полифенилметилсилоксан (GE-XE60, OV-225), 50% дифенил/50% полидиметилсилоксан (OV-17)

^е нижняя граница определяемых содержаний.

Исторически для ГХ определения продуктов дериватизации гидразинов разделение компонентов проводили на насадочных колонках в варианте ГЖХ. В качестве носителей обычно использовали сорбенты на основе обработанных аморфных кремнезёмов (диатомитовые) и графитированных саж, на которые наносили пленки полиэфирные или силоксановые неподвижные фазы.

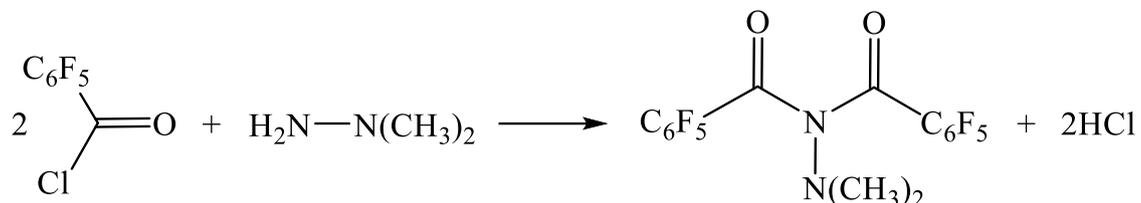


Схема 8. Реакция дериватизации НДМГ с ПФБХ [55]

Данный тип колонок использован для определения Ги в воде методом ГЖХ-АФД с предварительной дериватизацией ацетоном [173, 182]. Образование производных пиррола в реакции дериватизации гидразинов с 2,4-пентандионом [171] и ТФТБ [183] использовали для одновременного определения Ги и МГ в водных образцах методом ГЖХ-ПИД.

Для одновременного определения Ги и НДМГ в воздухе методом ГЖХ-ПИД проводили их адсорбцию силикагелевым сорбентом с нанесенной серной кислотой с последующим смывом дистиллированной водой и проведением дериватизации с 2ФА в полученном растворе. Концентрирования производных осуществляли с использованием предколоночной ловушки на основе Tenax¹⁷, что позволило увеличить объем вводимой пробы до 40 мкл [175]. Другой подход к одновременному определению Ги, МГ и НДМГ в воздухе с дериватизацией ацетоном предложен в работе [178]. В качестве поглотителя гидразинов из воздуха использовали ацетон с добавкой уксусной кислоты, и аликвоту этого раствора анализировали методом ГЖХ с хемилюминесцентным детектором (ХЛД), селективного к соединениям, содержащим атомы азота.

Для определения примеси Ги в коммерческом регуляторе роста растений малеиновом гидразиде применили дериватизацию с ПФБА [176]. ПФБХ использовали для определения Ги в плодах картофеля, собранного с полей, где

¹⁷ Tenax® – коммерческий сорбент на основе 2,6-дифенил-п-фениленоксида

применялся этот же регулятор [174]. Ги извлекали кислотными вытяжками из соответствующих объектов, а производные определяли методом ГЖХ-ЭЗД.

В отличие от малеинового гидразида другой регулятор даминозид значительно легче подвергается гидролизу с образованием НДМГ, который отгоняют щелочной дистилляцией с паром, как правило, в восстановительной среде хлорида титана (III). Далее НДМГ дериватизируют подходящим реагентом и определяют в виде производного, получая тем самым суммарное содержание даминозида и примеси НДМГ в объекте. Содержание сводного НДМГ определяют анализом кислотной вытяжки. Такой подход применяли для определения НДМГ и даминозида во фруктах и фруктовых соках методом ГЖХ-ЭЗД, используя в качестве дериватизирующих реагентов ПФБХ [55] или 2НБА [179-181].

Метод ГЖХ-АФД применяли для определения примеси Ги и его производных в фармпрепаратах. Примесь Ги в изониазиде и гидралазине определяли в виде производного с БА [177]. Авторами работы [18] разработана методика одновременного определения гидразина и бензилгидразина в таблетках изокарбоксазида. В основе подхода лежит образование соответствующих производных пиразола гидразинов в результате реакции с БТФА.

В работе [172] описан способ определения изониазида и его метаболитов, таких как Ги, ацетилГи, ацетилизониазид и диацетилГи в моче. Ги, изониазид и ацетилГи реагируют в водном растворе с 4ХБА с образованием соответствующих гидразонов, которые экстрагируют хлористым метиленом, а затем после замены растворителя на этилацетат определяют методом ГЖХ-АФД. Оставшиеся в водной фазе ацетилизониазид и диацетилГи гидролизуют в солянокислой среде до изониазида и ацетилГи, которые определяют аналогично.

Появление высокоэффективных капиллярных колонок с неподвижными фазами практически полностью вытеснило применение наполненных колонок, значительно меньшая эффективность которых критически сказывается на разделении компонентов и чувствительности определения. Кроме того, КГХ совместима с масс-спектрометрическим детектором (МС), который позволяет проводить не только идентификацию веществ, но и характеризуется высокой селективностью и чувствительностью.

Для разделения продуктов дериватизации гидразинов в варианте КГХ используют неподвижные фазы на основе полидиметилсилоксана с различными группами-модификаторами.

Весьма распространенным реагентом для дериватизации гидразинов является БА. Так, этот реагент применяли для определения Ги в моче методом КГХ-МС в режиме сканирования (SCAN) [184], а также для одновременного определения изониазида и ацетилГи в сыворотке крови тем же методом с использованием источника химической ионизации (ХИ) в режиме выделенных ионов (SIM¹⁸) [186]. Метод КГХ-АФД использовали для определения Ги в фармпрепаратах на основе гидралазина [193] и изониазида в виде азина БА [194]. Методические указания по определению Ги в воде предполагают его дериватизацию с БА с последующим анализом гексанового экстракта методом КГХ-ПВД [200]. При этом погрешность определения высока и составляет 40 %.

В работе [201] исследовалась возможность применения замещенных БА и 2ФА для определения НДМГ в водах и почве. При этом раствор реагента добавляли непосредственно в образец измельченной почвы, а после перемешивания полученной массы в течение 1 мин соответствующие гидразоны экстрагировали дихлорметаном с последующим анализом экстракта методом КГХ-МС.

Другой ароматический СА использовали для определения даминозида в арахисе и арахисовом масле методом КГХ-МС в виде гидразона НДМГ [188]. НДМГ выделяли щелочной дистилляцией с паром непосредственно из образца продукта питания. Реакцию НДМГ с СА проводили добавкой реагента в полученный дистиллят без контроля рН реакции в течении 1.5 ч при 50°C. Другие авторы [189] предложили модификацию данного подхода, заключающуюся в проведении реакции в уксуснокислой среде при рН 5-6, что позволило снизить предел обнаружения в 2 раза до 5 мкг/кг НДМГ.

Не менее популярным реагентом, использующимся для КГХ определения НДМГ, является ПФБХ. В работе [187] данный реагент предложили для дериватизации НДМГ и его определения в фруктах и соках. Для очистки кислотных экстрактов и концентрирования НДМГ применяли ионообменную хроматографию.

¹⁸ SIM – Single Ion Monitoring

Модификация другой методики определения даминозида и НДМГ [55] предложена в работе [190] с использованием метода КГХ-МС в режиме SIM вместо ГЖХ-ЭЗД. Выделение и концентрирование свободного НДМГ из яблочного сока осуществляли с помощью катионообменной хроматографии. Несколько измененные подходы к определению даминозида в фруктах [179-181] предложены в вариантах КГХ с МС [191] и АФД [192]. В работе [192] авторы изучили влияние природы восстановителя при щелочной дистилляции и пришли к выводу, что добавка восстановителей не влияет на извлечение НДМГ из матрицы образца. Данный реагент применили также и для определения МГ, являющегося маркером природного токсина гиромитрина (N-метил-N-формилгидразона ацетальдегида), в грибах «*Gyromitra esculenta*» методом КГХ-МС [202]. Гидролиз и экстракцию МГ из образца измельченных грибов осуществляли водно-этанольным раствором соляной кислоты при комнатной температуре в течение 2 ч.

Дериватизацию ПФБА применили для определения Ги методом КГХ-МС в биологических жидкостях и тканях печени мышей, подвергшиеся интоксикации, [195]. В качестве внутреннего стандарта использовали N_2^{15} -меченный Ги. Несколько измененный подход с применением того же реагента был использован для определения Ги в табачной продукции [54]. В работе [185] для одновременного определения моно-АГ, таких как метилгидразин, бензилгидразин, фенелзин и фенипразин в образцах крови использовали последовательность реакций сначала с ПФБА с образованием гидразонов, а затем с ПФПА (схема 9). Наличие большого количества атомов фтора в структуре конечных продуктов позволило достичь пределов обнаружения метода КГХ-ЭЗД на уровне нескольких мкг/л моно-АГ.

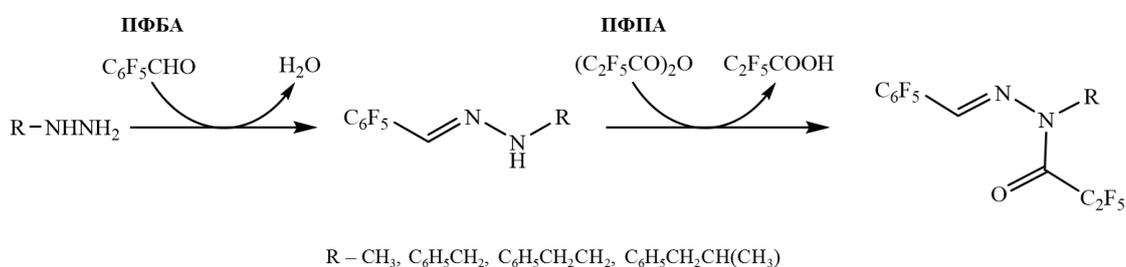


Схема 9. Схема последовательной дериватизации моно-АГ с ПФБА и ПФПА [185]

Предварительную дератизацию НДМГ с 4НБА используют для его ГХ определения в объектах окружающей среды согласно отечественным методикам в вариантах МС [196] и АФД детектирования [197-199]. Реакцию проводят в водной

среде при pH 5.5 и 35-40°C в течении 30 мин с последующей экстракцией диметилгидразона гексаном или гептаном. Анилин в этих условиях образует с 4НБА основание Шиффа, и используется в качестве внутреннего стандарта. НДМГ из образцов почв извлекают щелочной дистилляцией с паром в присутствии сульфида натрия. Стоит отметить, что для достижения требуемых пределов определения увеличивают инжестируемый объем до 10 мкл, а экстракцию проводят из большого количества пробы с упариванием растворителя до минимального объема, достигая степени концентрирования компонентов до 500 раз. Существенным недостатком данных методик является достаточно высокая погрешность (> 20 %).

Известный реагент ЭХФ, применяемый в органическом синтезе для этоксикарбонилирования нуклеофильных соединений, использовали для одновременного определения Ги и изониазида в противотуберкулёзных сиропах методом КГХ-ПИД [203]. ФенилГи, также образующий производное с ЭХФ, использовали в качестве внутреннего стандарта. Те же авторы предложили аналогичный подход с другим дериватирующим реагентом ТФАА для более чувствительного определения Ги и изониазида в сиропах и таблетках на его основе, а также в сыворотке крови пациентов, принимавших данные фармпрепараты [204]. Ими было предположено, что образующиеся дериваты ТФАА являются гидрозами, однако наиболее вероятно в этом случае образование производных пиразола в реакциях гидрозинов с 1,3-дикетонами, что было подтверждено в других работах [18, 171].

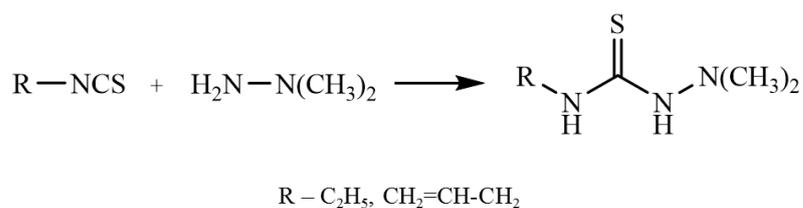


Схема 10. Реакция алкилизотиоцианатов с НДМГ [206]

Изоотиоцианаты ЭИТЦ и АИТЦ способны реагировать с гидрозидами по механизму нуклеофильного присоединения с образованием тиосемикарбазидов (схема 10). В работе [206] изучалась возможность их применения в качестве перспективных дериватирующих реагентов для определения НМДГ методом

КГХ-МС. Образование соответствующих тиосемикарбазидов подтверждали методом масс-спектрометрии лазерно-индуцированной десорбции/ионизации.

Некоторые варианты газовой экстракции, такие как парофазный анализ (ПФА) и твердофазная микроэкстракция (ТФМЭ), широко используются в сочетании с ГХ и являются общепризнанными методами определения летучих соединений в самых разнообразных объектах. При этом эти методы позволяют получать химическую информацию о качественном и количественном составе анализируемой конденсированной фазы, значительно снижая трудоемкость и затратность, а также повышая автоматизацию, экспресность и чувствительность анализа. В работе [208] применяли статический ПФА в сочетании с КГХ-МС для определения примеси Ги в фармпрепаратах, а в качестве дериватирующего реагента использовали ацетон. В другой работе [209] для экстракции диметилгидразона ацетона использовали ТФМЭ с волокном из полидиметилсилоксана с последующей десорбцией и разделением компонентов на полигликолевой неподвижной фазе.

Тандемная масс-спектрометрия (МС/МС) в сочетании с хроматографическими методами на сегодняшний день является мощнейшим методом качественного и количественного анализа. Использование режима мониторинга множественных реакций (ММР¹⁹) улучшает чувствительность определения за счет значительного уменьшения уровня фона, позволяя при этом проводить идентификацию веществ.

В работе [210] предложен подход к определению ультрамалых концентраций Ги в хлорированных и хлораминированных питьевых водах методом КГХ-МС/МС в варианте ХИ. Пробоподготовка включала в себя дериватизацию ацетоном, множественную жидкостную экстракцию дихлорметаном из большого объема исходной пробы, сушку экстракта и упаривание растворителя. Для получения калибровочных кривых использовали метод изотопного разбавления²⁰ с использованием N₂¹⁵-меченного Ги. Недостатком предложенного подхода является продолжительное общее время анализа каждого образца воды более 2.5 ч.

¹⁹ Multiple reaction monitoring (MRM)

²⁰ Метод изотопного разбавления (стабильных изотопов) – метод количественного анализа в масс-спектрометрии, основанный на изменении соотношения изотопов в образце путем добавки в него известного количества изотопно-обогащенного вещества. В качестве аналитического сигнала для построения градуировочных зависимостей используются отношения сигналов по каждому изотопу.

Простой и высокочувствительный подход к определению Ги в питьевой воде ($C_{\min} = 4.4$ нг/л) методом КГХ-МС/МС с ТФМЭ и предварительной дериватизацией алкилхлорформиатами разработан авторами работы [211]. Для оптимизации условий дериватизации, ТФМЭ и МС/МС-детектирования использовали метод экспериментального дизайна. Сорбция производных осуществлялась на волокно из полиметилсилоксанового/дивинилбензольного полимера. Наилучшие результаты по чувствительности продемонстрировал ПХФ. Недостатком применения данного реагента является образование смеси моно-, ди-, три- и тетразамещенных производных Ги, и даже в оптимальных условиях селективно очень сложно добиться полного замещения атомом водорода Ги, что неизбежно сказывается на чувствительности определения.

Метод ТФМЭ в сочетании с КГХ-МС/МС применили авторы другой работы [212] для определения следовых количеств Ги в сточных водах. В качестве дериватирующего реагента предложено использовать ТФПД, образующий с Ги производное пиразола. Дериватизацию проводили непосредственно в виалле для ПФА, а дериват экстрагировали и концентрировали, используя карбоксен/полидиметилсилоксановое волокно.

Таким образом, при всей высокой эффективности разделения капиллярных колонок в варианте реакционной ГХ определение следовых количеств гидразинов предполагает необходимость этапа многостадийной и трудоемкой пробоподготовки с заменой растворителя, дополнительной очистки до и после экстракции, а также концентрирования производных, как правило, из большого исходного количества пробы. Увеличение количества пробы потребует увеличения количества реагента, вносимого в систему. В результате увеличивается не только общее время и стоимость анализа, но и ошибка определения в результате возможного мешающего влияния сконцентрированных примесей и потерь на этапе пробоподготовки. Кроме того, при разработке подходов нужно учитывать мешающее влияние дериватирующего реагента, который находясь в большом избытке в системе, так же концентрируется и будет затруднять анализ вследствие возможной перегрузки колонки и детектора особенно при вводе больших объемов в хроматограф. При этом сложно предсказать устойчивость дериватов при повышенной температуре в газовой

фазе в условиях ГХ анализа. Все эти обстоятельства является очевидными и существенными недостатками ГХ метода.

Определение гидразинов с требуемой чувствительностью на уровне долей мкг/л (мкг/кг) и ниже позволяют осуществить всего несколько подходов, однако они предполагают применение сложной пробоподготовки. Предложенные в последние годы автоматизированные и менее трудоемкие подходы с использованием ТФМЭ в сочетании с МС/МС-детектированием обеспечивают высокую чувствительность определения, однако такое аппаратное оформление доступно далеко не каждой современной лаборатории.

1.2.2.2. Жидкостная хроматография

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) может быть альтернативой ГХ, когда требуется определять нелетучие или термолабильные соединения в объектах со сложной матрицей. Сегодня ВЭЖХ, благодаря успехам и развитию технологий получения синтетических сорбентов, относительной доступности и широкому выбору подвижных и неподвижных фаз, а также легкости их варьирования, позволяют добиваться высокой селективности разделения, и по праву является одним из ведущих и самых бурно развивающихся методов химического анализа практически любых объектов. Особенно стоит выделить ВЭЖХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС методы, которые обладают значительными преимуществами, мощнейшим потенциалом и возможностями, при этом характеризуются почти универсальной применимостью, высочайшей селективностью, большой достоверностью и высокой чувствительностью определения даже при высоком содержании матричных компонентов [213].

На данный момент ВЭЖХ является одним из самых часто используемых методов определения гидразинов. Среди используемых для определения гидразинов ВЭЖХ подходов выделяют две основные группы: прямого определения в нативной форме (без дериватизации) и с предварительной дериватизацией (табл. 7).

Таблица 7. Подходы к ВЭЖХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Колонка ^в	Подвижная фаза ^г	V _{в.п.} ^д , мкл	Детектор	ЛДОК, мкг/л	C _{мин} , мкг/л	Объект	Лит. источник
Ги	–	–	μBondapak C18 (300×4 мм, 10 мкм)	0.8 мл/мин, 95% 0.01 М ФБР (pH 7)/5% CH ₃ CN	20	АД, +0.1 В	0.1-50 нг	0.1 нг	Моча	[214]
МГ							0.1-52 нг	0.1 нг		
НДМГ							0.8-320 нг	0.8 нг		
СДМГ							3-600 нг	3 нг		
Ги	–	–	μBondapak C18 (250×4 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 0.1 М ФБР (pH 7)	10	АД, +0.45 В	1-200 мкМ	0.5 мкМ	Модельные растворы	[215]
МГ							2.4-1000 мкМ	1 мкМ		
СДМГ							3-100 мкМ	1.5 мкМ		
Ги	–	–	μBondapak C18 (250×4 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 0.1 М ФБР (pH 7)	10	АД, +0.8 В	0.3-750 мкМ	0.15 мкМ	Модельные растворы	[216]
МГ							0.6-900 мкМ	0.3 мкМ		
СДМГ							0.8-800 мкМ	0.5 мкМ		
Ги	–	–	Aminex A-5 (30×4 мм, 13 мкм)	1 мл/мин, 0.05 М ББР (pH 8.9)	100	АД, +1.0 В	80-1200 нг	–	Плазма, Моча	[217]
МГ							17-1100 нг			
НДМГ							8-250 нг			
СДМГ							10-600 нг			
Ги	–	–	Hamilton PRP-X200 (250×4.1 мм, 10 мкм)	1 мл/мин, 94% 5 мМ ФБР (pH 3.5)/6% CH ₃ CN	25	АД, +0.1 В (0.333 с), +0.5 В (0.333 с), -0.35 В (0.333 с)	150-5000	25	Питьевые, природные и сточных воды, почвы	[218]
МГ										
НДМГ										
Ги	–	–	CS-14 (250×4 мм, 8 мкм)	1 мл/мин, 10 мМ HClO ₄	–	АД, +0.8 В	100-400 мг/кг	50 мг/кг	Фармпрепараты	[219]
Ги	–	–	Nucleosil 10SA (100×4 мм, 10 мкм)	0.8 мл/мин, 50 мМ ФБР (pH 6.9)	500	АД, +1.0 В	1-60	0.4	Дистилляты из почв	[220]
МГ							1-80	0.6		
НДМГ							2-200	1.0		
СДМГ							10-250	2.0		

Таблица 7 (продолжение). Подходы к ВЭЖХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Колонка ^в	Подвижная фаза ^г	V _{в.п.} ^д , мкл	Детектор	ЛДОК, мкг/л	C _{min} , мкг/л	Объект	Лит. источник
Ги	–	–	Nucleosil 10SA (100×4 мм, 10 мкм)	1 мл/мин, 50 мМ АБР (рН 5.3)	250	АД, +1.2 В	–	0.2	Дистилляты и экстракты из почв, (почвы)	[221]
МГ							–	0.5		
НДМГ							4-2000 (0.08-40 мг/кг)	1		
НДМГ	–	–	Luna SCX (250×4 мм, 10 мкм)	1 мл/мин, 90% 100 мМ АБР (рН 5.4)/10% CH ₃ CN	100	АД, +1.3 В	–	0.05 мг/кг	Почвы	[222]
Ги	–	–	Zorbax 300-SCX (150×2.1 мм, 5 мкм)	0.5 мл/мин, 5 мМ ФБР (рН 6)	100	АД, +0.8 В	0.1-200	0.024	Природная и подпиточная вода теплоэнергетических установок	[223]
НДМГ	–	–	Nucleosil 10SA (250×4 мм, 10 мкм)	1 мл/мин, 100 мМ АБР (рН 5.4)	On-line ^е 100 мл	АД, +1.3 В	0.05-2	0.02	Питьевые и природные воды	[224]
НДМГ	–	–	Nucleosil 10SA (100×4 мм, 10 мкм)	1 мл/мин, 100 мМ АБР (рН 5.4)	On-line ^е 10 мл	АД, +1.3 В	0.5-20	0.1	Питьевые и природные воды	[225]
НДМГ	–	–	Metrosep C (150×4 мм, 4 мкм)	1.2 мл/мин, 0.75 мМ ПДКК/1.5 мМ HNO ₃ (рН 2.2-6)	20	КД	0.5-1000 мг/л	0.05 мг/л	Сточные воды	[226]
Ги	–	–	TSKgel DEAE-5PW (150×7.5 мм, 10 мкм)	1 мл/мин, деионизованная вода	100	КД	1-100000	0.64	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	[227]
Ги	–	–	TSKgel DEAE-5PW (150×7.5 мм, 10 мкм)	1 мл/мин, деионизованная вода	100	СФ, 230 нм	1-5000 мкМ	8 нМ	Природная и подпиточная вода теплоэнергетических установок	[228]
Ги	–	–	Synergi Hydro RP (150×4 мм, 10 мкм)	1 мл/мин, 91.5% 5 мМ ОСН, 200 мМ АБР (рН 4.4)/8.5% CH ₃ CN	100	АД, +1.2 В	8-1000	0.3	Модельные растворы	[229]
МГ							2.7-900	0.7		
НДМГ							7.2–800	0.8		

Таблица 7 (продолжение). Подходы к ВЭЖХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Колонка ^в	Подвижная фаза ^г	V _{в.п.} ^д , мкл	Детектор	ЛДОК, мкг/л	C _{min} , мкг/л	Объект	Лит. источник
Ги	–	–	ZIC HILIC (250×4.6 мм, 5 мкм)	0.4 мл/мин, 0.1% ТФУ/30% вода/70% этанол	20	ХЛД	0.01-0.1%	–	Модельные образцы фармпрепаратов	[230]
МГ							–	–		
НДМГ							0.01-0.1%	–		
СДМГ							–	–		
Ги	–	–	Nucleodur HILIC (150×3 мм, 3 мкм)	0.5 мл/мин, 22% 20 мМ АБР (рН 2.5)/78% CH ₃ CN	10	АД, +1.1 В	0.2-3000	0.07	Природные воды, щелочные дистилляты из почв	[231]
МГ							0.4-4000	0.13		
НДМГ							0.3-1000	0.1		
Ги	–	–	ZIC-pHILIC (150×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 0.2 мМ HCl/0.04% ТФУ/40% вода/60% CH ₃ CN	5	АЭД*	5-100 мг/л	1 мг/л	Модельные растворы	[232]
Ги	–	–	Nucleosil 5SA (150×2 мм, 5 мкм)	0.2 мл/мин, 90% 40 мМ АБР (рН 5.5)/20% CH ₃ CN	100	МС, m/z 33	200-100000	70	Модельные растворы	[233]
МГ						МС, m/z 47	80-50000	30		
НДМГ						МС, m/z 61	40-40000	12		
МГ	–	–	Nucleosil 100-5SA (125×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 75% 50 мМ АБР (рН 5.4)/25% метанол	20	МС/МС, m/z 47→32	60-20000	17.6	Экстракты из почв	[234]
НДМГ						МС/МС, m/z 61→46	40-20000	12.8		
МГ	–	–	Nucleodur HILIC (150×3 мм, 3 мкм)	0.5 мл/мин, 20% 25 мМ ФоБР (рН 2.5)/80% CH ₃ CN	5	МС/МС, m/z 47→32	20–20000	6.6	Экстракты из почв	[235]
НДМГ						МС/МС, m/z 61→44	10–20000	1.7		

Таблица 7 (продолжение). Подходы к ВЭЖХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Колонка ^в	Подвижная фаза ^г	V _{в.п.} ^д , мкл	Детектор	ЛДОК, мкг/л	C _{min} , мкг/л	Объект	Лит. источник
НДМГ	4НБА	АБР pH 5.5, 75°C, 15 мин	Silasorb 300 (150×3 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, БК (1 г/л), 92.5% гексан/7.5% этилацетат	20	СФ, 353 нм	10-1000	3	Природная вода, экстракты из почв	[236]
Ги	БА	pH не контролировался, 20°C, 30 мин	Radial-ПАК А (100×5 мм, 10 мкм)	0.8 мл/мин, 10% вода/90% метанол	15	СФ, 313 нм	20-500 мкг/м ³	5 мкг/м ³	Воздух	[237]
Ги	БА	ФБР pH 7, 70°C, 30 мин	Spherisorb ODS1 (150×4.6 мм, 5 мкм)	2 мл/мин, 45% 100 мМ ФБР (pH 7)/55% CH ₃ CN	10	СФ, 310 нм	17-1000	17 ^з	Модельные растворы	[238]
Ги	БА	ББР, 20°C, –	Supelcosil LC-18 (250×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 5% вода/95% метанол	25	СФ, 313 нм	500-10000	20	Экстракты из почв, отложений и ила	[239]
Ги	БА	0.2 М NaOH/метанол, 20°C, 20 мин	Kinetex C18 (100×4.6 мм, 2.6 мкм)	–, 30% вода/70% метанол	10	СФ, 300 нм	0.3-5 мг/кг	0.1 мг/кг	Фармпрепараты	[240]
Ги	БА	50 мМ C ₆ H ₅ COOH pH 3.7, 20°C, 1 ч	Luna C18 (150×4.6 мм, 3 мкм)	1 мл/мин, ГР: 10-65% (0.1% HCOOH)/35-90% (0.1% HCOOH в CH ₃ CN)	5	МС, m/z 209.2	0.1-20 мг/кг	–	Фармпрепараты	[241]
АцетилГи						МС, m/z 163.2	1-100 мг/кг			
Ги	2НБА	ФБР/ЦБР pH 7.4, 35°C, 30 мин	Kinetex PFP (100×4.6 мм, 2.6 мкм)	0.3 мл/мин, ГР: 25-90% (0.1% ГФМК)/10-75% (0.1% ГФМК в метаноле)	5	МС/МС, m/z 299→166	0.08-250 (0.4-800 нг/сигарета)	0.04 (0.2 нг/сигарета)	Табачный дым	[242]
Ги	2НБА	CH ₃ COOH pH 2-3, 75°C, 45 мин	Zorbax Eclipse HT-C18 (150×4.6 мм, 5 мкм)	0.6 мл/мин, ГР: 0-80% 5 мМ АБР/20-100% 5 мМ АБР в CH ₃ CN	20	МС/МС, m/z 299.1→151.1	1-20	–	Плазма	[243]
МГ						МС/МС, m/z 180.2→78.1	10-200			
НДМГ						МС/МС, m/z 194.2→59.1	10-200			

Таблица 7 (продолжение). Подходы к ВЭЖХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Колонка ^в	Подвижная фаза ^г	V _{в.п.} ^д , мкл	Детектор	ЛДОК, мкг/л	C _{min} , мкг/л	Объект	Лит. источник
НДМГ	4НБА	АБР pH 5.5, 75°C, 15 мин	Zorbax C8 (250×4.6 мм, 5 мкм)	0.9 мл/мин, 30% вода/70% CH ₃ CN	50	СФ, 390 нм	120-600	–	Модельные растворы	[244]
ФенилГи	4НБА	pH не контролировался, 20°C, 45 мин	Diamonsil C18 (250×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 30% (0.1% H ₃ PO ₄)/70% CH ₃ CN	20	СФ, 416 нм	20-400 мг/кг	0.8 мг/кг	Фармпрепараты	[245]
Ги	СА	АБР pH 5.5, 60°C, 20 мин	μBondapak C18 (250×4 мм, 5 мкм)	2 мл/мин, 53% 140 мМ ФБР (pH 2.5)/37% CH ₃ CN	20	СФ, 254 нм	–	2000	Модельные растворы	[246]
НДМГ								5000		
Ги	СА	ФБР pH 6, 20°C, 20 мин	Ultracarb ODS (150×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 40% вода/60% CH ₃ CN	20	СФ, 209 нм	10-1000 мг/кг	10 ³ мг/кг	Фармпрепараты	[247]
Ги	СА	ФБР pH 7.4, 60°C, 1 ч	UPLC BEH C18 (50×2.1 мм, 1.7 мкм)	0.2 мл/мин, 40% вода/60% CH ₃ CN	–	СФ, 209 нм	250-12500	80	Фармпрепараты	[248]
Ги	СА	0.15 М HCl, 20°C, 10 мин	Inertsil ODS-3V (250×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 35% 20 мМ ФБР/65% CH ₃ CN	20	СФ, 354 нм	0.8-4 мг/кг	0.27 мг/кг	Фармпрепараты	[249]
Даминозид	СА	pH не контролировался, 50°C, 25 мин	Microsorb-MV 100 C18 (250×4.6 мм, 5 мкм)	0.8 мл/мин, 50% вода/50% CH ₃ CN	20	СФ, 295 нм	–	1 мкг/кг	Мякоть яблок	[250]
Ги	СА	АБР pH 3.2, 60°C, 30 мин	Spherisorb ODS2 (250×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, ГР: 15-25% (5 мМ ГСА/CH ₃ CN/вода/ТЭА) /75-85% CH ₃ CN	20	СФ, 280 нм	100-800	50	Плазма	[251]
АцетилГи							500-8000	200		
Изониазид							500-8000	250		
Ги	СА	АБР, 70°C, 1 ч	IBM C-18 (250×4.1 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 45% 50 мМ ЦБР (pH 4.1)/55% CH ₃ CN	20	АД, +1.0 В	50-630	25	Подпиточная вода теплоэнергетических установок	[252]
НДМГ							400-5000	200		

Таблица 7 (продолжение). Подходы к ВЭЖХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Колонка ^в	Подвижная фаза ^г	V _{в.п.} ^д , мкл	Детектор	ЛДОК, мкг/л	C _{min} , мкг/л	Объект	Лит. источник
Ги	4ГБА	2% ТХУ, 20°C, 6 мин	LiChrospher 100 RP 18 (125×4 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 40% вода/60% метанол	50	СФ, 340 нм	5-1000	1	Плазма	[253]
Ги	4МБА	pH не контролировался, 60°C, 30 мин	Zorbax SB-C18 (50×2.1 мм, 1.8 мкм)	0.5 мл/мин, 40% (0.1% HCOOH/60% CH ₃ CN	5	МС/МС, m/z 269.1→134.1	0.05-12.3	–	Моча	[254]
Ги	Коричный альдегид	5% ТХУ, 20°C, 10 мин	Partecil C8 (250×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, ГР: 45% 50 мМ ФБР (pH 7)/40-70% (CH ₃ CN/i-PrOH 4:1)	20	СФ, 340 нм	10-400	10 ³	Плазма, моча	[255]
Изониазид							1000-25000	500		
Ги	4МеБА	pH не контролировался, 20°C, 40 мин	X Bridge VEN C18 (50×2.1 мм, 2.5 мкм)	0.5 мл/мин, ГР: 5-95% (0.1% HCOOH/5-95% CH ₃ CN	10	МС/МС, m/z 237.1→119.9	0.005-50	0.002	Плазма	[256]
АцетилГи							МС/МС, m/z 176.9→117.8	0.05-500		
Изониазид	6Ме2ПА	АБР pH 1, 100°C, 10 мин	YMC ODS (150×4.6 мм, -)	1.7 мл/мин, 2% 1 мМ АБР/2% CH ₃ CN/3% i-PrOH/42% вода/51% метанол	5	СФ, 333 нм	6.8-41.1 мг/кг	–	Фармпрепараты	[257]
Изониазид	5Ме2ФА	HCl/KCl pH 2.5, 70-80°C, 10 мин	YMC ODS (150×4.6 мм, -)	2 мл/мин, 59% вода/39% метанол/2% ТГФ	5	СФ, 328 нм	1.4-5.5 мг/кг	–	Фармпрепараты	[258]
Ги	5Н2ФА	ФБР pH 5.0, 60°C, 40 мин	Zorbax Eclipse Plus C18 (150×3 мм, 3.5 мкм)	0.4 мл/мин, ГР: 30-70% вода/30-70% CH ₃ CN	10	СФ, 385 нм	3.4-1000	1	Природные и питьевые воды, кислотные экстракты из почв	[259]
МГ						СФ, 420 нм	2-1000	0.6		
НДМГ						СФ, 454 нм	0.9-1000	0.3		
Ги		АБР 5.4, 140-150°C, 1.7 мин (в потоке)	Nucleosil 100-5SA (125×4.6 мм, 3.5 мкм)	1.2 мл/мин, 50 мМ АБР 5.4; 0.05 мл/мин, 2 мМ 5Н2ФА в i-PrOH		СФ, 385 нм	3.2-1000	0.9		
МГ						СФ, 420 нм	1.4-1000	0.4		
НДМГ						СФ, 454 нм	0.7-1000	0.2		

Таблица 7 (продолжение). Подходы к ВЭЖХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Колонка ^в	Подвижная фаза ^г	V _{в.п.} ^д , мкл	Детектор	ЛДОК, мкг/л	C _{min} , мкг/л	Объект	Лит. источник
Ги	2ГНА	ДМСО, 100°C, 30 мин	Zorbax Eclipse XDB-C18 (150×3 мм, 3.5 мкм)	1 мл/мин, ГР: 10-50% (0.05% ТФУ в воде)/50-90% (0.05% ТФУ в CH ₃ CN)	10	СФ, 406 нм	2-200 (1-100 мкг/кг)	0.5 (0.25 мкг/кг)	Фармпрепараты	[260]
Ги	НДА	ББР pH 9.0, 20°C, 1 мин	Zorbax Eclipse XDB C8 (150×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, ГР: 10-85% (0.1% H ₃ PO ₄)/15-90% CH ₃ CN	100	ФЛ, λ _{ex} 273 нм, λ _{em} 500 нм	0.1–50	0.05	Природные воды, дистилляты из почв	[261]
Ги	НДА	ББР pH 9.0, 20°C, 1 мин	Zorbax Eclipse AAA (150×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, ГР: 10-85% (0.1% H ₃ PO ₄)/15-90% CH ₃ CN	100	ФЛ, λ _{ex} 273 нм, λ _{em} 500 нм	0.1-50	0.05	Природная и подпиточная вода теплоэнергетических установок	[262]
МГ						0.1-50	0.05			
НДМГ						СФ, 290 нм	2.5-5000	1		
Ги	АДА	0.01М КОН pH 11, 20°C, 1 мин	Supelcosil LC-18 (150×4.6 мм, 3.5 мкм)	1 мл/мин, ГР: 0-90% 5 мМ АБР/10-100% CH ₃ CN	10	ФЛ, λ _{ex} 476 нм, λ _{em} 549 нм	0.05-1	0.02	Сточные воды	[263]
Ги	ОФА	ФБР pH 2, 20°C, 1 мин	Acquity UPLC C18 VEN (50×2.1 мм, 1.7 мкм)	0.5 мл/мин, ГР: 90-98% 20 мМ ФБР (pH 2)/ 2-10% CH ₃ CN	5	ФЛ, λ _{ex} 315 нм, λ _{em} 370 нм	0.25-5 мкг/кг	0.03 мкг/кг	Фармпрепараты	[264]
Ги	НДА	0.1 М HCl pH 2, 20°C, 1 мин	Zorbax Eclipse C18 (50×2.1 мм, 1.8 мкм)	0.2 мл/мин, ГР: 0-100% 0.5 мМ HCOOH/ 0-100% CH ₃ CN	10	МС/МС, m/z 181→127	0.01-1	0.003	Питьевые воды	[265]
МГ	ГО	ФБР pH 3.5, 25°C, 20 мин	Zorbax SB-C18 (150×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 95% 20 мМ ФБР (pH 3.5)/ 5% CH ₃ CN	100	СФ, 305 нм	1-10000	0.50	Модельные растворы	[266]
ГЭГ							1-10000	0.50		
НДМГ							0.5-10000	0.25		
МГ	ГОК	ФБР pH 3.5, 40°C, 20 мин	Zorbax SB-C18 (150×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 98% 20 мМ ФБР (pH 3.5)/ 2% CH ₃ CN	100	СФ, 289 нм	1-10000	0.5	Модельные растворы	[266]
ГЭГ							1.4-10000	0.7		
НДМГ							0.8-10000	0.4		

Таблица 7 (продолжение). Подходы к ВЭЖХ определению Ги и его производных

Определяемое вещество	Реагент ^а	Условия реакции ^б	Колонка ^в	Подвижная фаза ^г	V _{в.п.} ^д , мкл	Детектор	ЛДОК, мкг/л	C _{min} , мкг/л	Объект	Лит. источник
НДМГ	ГО	ФБР pH 3.5, 25°C, 20 мин	Zorbax SB-C18 (150×4.6 мм, 5 мкм)	1 мл/мин, 95% 20 мМ ФБР (pH 3.5)/ 5% CH ₃ CN	100	СФ, 305 нм	0.01–20	0.005	Модельные растворы	[267]
НДМГ	ФГО	АБР pH 5, 70°C, 10 мин	Zorbax SB-C18 (150×4.6 мм, 3.5 мкм)	1 мл/мин, 65% 20 мМ АБР (pH 5.4)/ 35% CH ₃ CN	100	МС/МС, m/z 177→77	0.03–1	0.01	Природные воды	[268]
Ги	ХДНБФ	ФБР pH 6.5-7.0, 20°C, 20 мин	Hypersil ODS (250×4 мм, -)	0.8 мл/мин, 15% 20 мМ ФБР (pH 3.5-4.0)/ 85% CH ₃ CN	20	СФ, 530 нм	0.12-60	0.05	Природные воды	[269]
Ги	ХДНБФ	pH не контролировался, 20°C, 30 мин	Hypersil ODS (250×4 мм, -)	0.8 мл/мин, ГР: 0-40% ФБР (pH 2.5)/ 60-100% CH ₃ CN		СФ, 420-630 нм	–	10 мкг/м ³	Воздух	[270]
ФенилГи								17 мкг/м ³		
НДМГ								15 мкг/м ³		
НДМГ	БХ	Вода/i-PrOH/ДИПЭА, 20°C, 1 ч	X-Terra MS-C18 (150×3 мм, 3.5 мкм)	0.25 мл/мин, ГР: 25-90% (0.1% ГФМК)/10-75% (0.1% ГФМК в метаноле)	20	МС/МС, m/z 165.1→44.1	0.15–2.7 мкг/кг (1-18 мкг/л)	–	Фармпрепараты	[271]

^а 2ГНА – 2-Гидрокси-1-нафталальдегид; 4ГБА – 4-гидроксибензальдегид; 4МБА – 4-метоксибензальдегид; 4МеБА – 4-метилбензальдегид; 4НБА – 4-нитробензальдегид; 5Ме2ФА – 5-метил-2-фурановый альдегид; 5Н2ФА – 5-нитро-2-фуральдегид; 6Ме2ПА – 6-метил-2-пиридинальдегид; АДА – 2,3-антрацендикарбальдегид; БА – бензальдегид; БХ – бензоилхлорид; ГО – глиоксаль; ГОК – глиоксиловая к-та; ГЭГ – 2-гидроксиэтилгидразин; НДА – 2,3-нафталиндикарбальдегид; ОФА – о-фталевый альдегид; СА – салициловый альдегид; ФГО – фенилглиоксаль; ХДНБФ – 4-хлор-5,7-динитробензофуразан;

^б АБР – ацетатный буферный раствор; ББР – боратный буферный раствор; ДИПЭА – диизопропилэтиламин; ДМСО – диметилсульфоксид; ТХУ – трихлоруксусная к-та;

ФБР – фосфатный буферный раствор; ФоБР – формиатный буферный раствор; ЦБР – цитратный буферный раствор;

^в неподвижные фазы: силикагель (Silasorb 300); полимерные сульфокатионообменники (Aminex A-5, Hamilton PRP-X200, TSKgel SCX), полимерные карбоксильные катионообменники (CS-14), полимерные анионообменники (TSKgel DEAE-5PW, TSKgel SAX); карбоксильные катионообменники на силикагеле (Metrosep C); сульфокатионообменники на силикагеле (Nucleosil 5SA, Nucleosil 10SA, Nucleosil 100-5SA, Luna SCX, Zorbax 300-SCX), гидрофобизированные силикагели (C8 – Partecel C8; Hichrom C8, Zorbax C8, Zorbax Eclipse XDB C8; C18 – μBondapak, Synergi Hydro RP, Radial-PAK A, IBM C-18, Ultracarb ODS, Spherisorb ODS1, Spherisorb ODS2, YMC ODS, Hypersil ODS, Microsorb-MV 100 C18, Supelcosil LC-18, Zorbax SB-C18, Zorbax Eclipse AAA, Zorbax Eclipse XDB-C18, Zorbax Eclipse Plus C18, Diamonsil C18, Inertsil ODS-3V, Zorbax Eclipse HT-C18, Luna C18, X Bridge BEH C18, X-Terra MS-C18); силикагели с привитыми цвиттер-ионными группами (ZIC HILIC, Nucleodur HILIC); полимерные сорбенты с привитыми цвиттер-ионными группами (ZIC-pHILIC); силикагели с привитыми пентафторфенильными группами (ОФ сорбент) (Kinetex PFP)

^г составы подвижных фаз в об. %; ГР – градиентный режим элюирования; БК – бензойная к-та; ГСА – гептансульфоновая к-та; ГФМК – гептафтормасляная кислота; ОСН – октилсульфат натрия; ПДКК – 2,6-пиридиндикарбоновая к-та; ТГФ – тетрагидрофуран; ТФУ – трифторуксусная к-та; ТЭА – триэтиламин;

^д объем вводимой пробы; ^е on-line динамическое сорбционное концентрирование; ^ж аэрозольное детектирование; ^з нижняя граница определяемых содержаний.

Вариант прямого ВЭЖХ определения гидразинов, благодаря их ярко выраженным восстановительным свойствам, часто сочетают с АД, как правило, с модифицированными или немодифицированными электродами из стеклоуглерода в постоянноточковом режиме регистрации хроматограмм. С этой целью металлические электроды используют значительно реже [218, 219].

Известно несколько работ по прямому определению гидразинов методом обращено-фазовой (ОФ) ВЭЖХ. Так, данный метод использовали для одновременного определения Ги и метилированных АГ в моче и в водных образцах без пробоподготовки с АД на модифицированных стеклоуглеродных электродах [214-216]. Слабое удерживание на ОФ сорбентах, а также низкая эффективность разделения и неудовлетворительная форма пиков, в результате взаимодействия гидразинов с остаточными силанольными группами на поверхности силикагелей, являются существенными недостатками прямого их определения в условиях ОФ ВЭЖХ.

Ввиду ярко выраженных полярных и ионогенных свойств для разделения гидразинов можно использовать ионную (ИХ), ион-парную (ИПХ), ион-экслюзионную (ИЭХ) и гидрофильную (HILIC²¹) ВЭЖХ.

ИХ является одним из основных методов, используемых для определения катионов и анионов. Разделение гидразинов в рамках данного метода осуществляют, как правило, на карбоксильных или сульфокатионообменниках с полимерной или силикагелевой матрицей. Химически модифицированные силикагелевые сорбенты обеспечивают наилучшие характеристики разделения гидразинов, благодаря большей эффективности и меньшему вкладу гидрофобных взаимодействий в разделение для АГ [220].

Метод ИХ-АД использовали для определения Ги и его метилированных аналогов в плазме крови и моче [217], в фармпрепаратах [219] и объектах окружающей среды [218, 220-223]. При этом их определение в объектах с водной матрицей обычно предполагает только очистку от механических примесей без проведения дополнительной пробоподготовки. Для определения гидразинов в образцах с твердой матрицей получают их водные или кислотные вытяжки, но

²¹ Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC)

лучшим способом извлечения является щелочная дистилляция, позволяющая не только количественно выделить гидразины, но и избавиться от мешающего влияния компонентов матриц. Щелочную дистилляцию проводят в токе азота 40-50%-ным раствором гидроксида натрия с добавкой сульфида натрия. При этом, сульфид выступает в роли восстановительного агента, предотвращающего окисление гидразинов, а щелочь обеспечивает гидролиз химических связей гидразинов с компонентами почв, что позволяет добиться высоких степеней извлечения [220-222].

Для достижения низких пределов определения в ряде случаев увеличивают объем вводимой пробы до 500 мкл [220, 221]. Другой способ повышения чувствительности для определения НДМГ в природных и питьевых водах предложен в работах [224, 225]. Авторы применили on-line динамическое сорбционное концентрирование аналитов из пробы объемом 100 мл на колонке Nucleosil 10SA с последующей десорбцией компонентов в противотоке подвижной фазой и определением методом ИХ-АД. Среди достоинств стоит отметить, полную автоматизацию, высокую чувствительность ($C_{\min} = 20$ нг/л) и прецизионность ($s_r = 0.05$) анализа [224]. Однако недостатком такого подхода является мешающее влияние других катионов в образце в концентрациях больше 1 мМ из-за конкуренции сорбции на сульфокатионообменнике, которое предложено устранять использованием сорбционной колонки большей емкости или дополнительной пробоподготовки, например щелочной дистилляции [225].

Кондуктометрический детектор (КД) является классическим в ИХ для определения катионов и анионов и более доступен для рутинных анализов по сравнению с АД. Метод ИХ-КД использовали для одновременного определения НДМГ и ряда щелочных и щелочноземельных металлов в сточных водах. Для увеличения селективности разделения в подвижную фазу добавляли хелатообразующий реагент ПДКК [226].

Менее популярным подходом к определению Ги является метод ИЭХ, который обычно используют для разделения слабых электролитов. Для ИЭХ разделения слабых оснований применяют аниообменники. Катионы сильных электролитов из-за эффекта Доннана не удерживаются в неподвижной фазе и элюируются с мертвым объемом. Однако слабые основания, такие, например, как Ги

или аммиак, переходя в нейтральную форму, могут проникать в поры сорбента и взаимодействовать с фазой анионообменника за счет неионных взаимодействий [272]. Известно всего несколько работ, посвященных применению ИЭХ для определения гидразинов. Так, метод ИЭХ-КД использовали для определения Ги и аммиака [227]. Для повышения чувствительности применяли последовательно установленные подавительные анионообменную и катионообменную колонки. Те же авторы [228] предложили ИЭХ-СФ подход к определению натрия, аммония и Ги в воде. Между разделяющей колонкой и СФ-детектором устанавливали колонку с анионообменником в Г-форме. На выходе из ионообменной колонки аналиты определяли по поглощению противоиона (иодид-иона) при 230 нм. Применение подавляющих колонок приводит к дополнительному уширению хроматографических зон, усложняет и увеличивает длительность анализа, при этом возникает необходимость периодической регенерации или замены таких колонок.

Другой альтернативой ИХ является метод ИПХ, который позволяет проводить одновременное разделение смеси нейтральных и заряженных соединений. Разделение основано на смешанном механизме ионных и гидрофобных взаимодействий, при этом его селективность больше зависит от состава подвижной фазы, чем от типа ОФ сорбента. Выбор ион-парного реагента (ИПР) и его концентрации в подвижной фазе будет определять удерживание и разделение компонентов. Для разделения катионов в качестве ИПР, как правило, используют соль сильной кислоты, представляющую собой гидрофобный анион, хорошо сорбирующийся на поверхности ОФ сорбента, например ДДСН [272]. Применение ИПХ-АД с ОСН в качестве ИПР для одновременного определения НДМГ и основных продуктов его трансформации продемонстрировано в работе [229].

Метод HILIC ВЭЖХ также позволяет проводить эффективное разделение высокогидрофильных и амфифильных соединений, которые слишком полярны, чтобы удерживаться в ОФ ВЭЖХ, и недостаточно ионизированы, чтобы обеспечивать эффективное электростатическое удерживание в условиях ИХ. В качестве неподвижных фаз используют полярные сорбенты на основе силикагеля или полимерных матриц, с привитыми полярными и/или ионогенными группами [273]. Данный метод применяли для определения Ги и его метилированных

производных в фармпрепаратах с ХЛД [230], а также в природных объектах в сочетании с АД [231] и аэрозольными детекторами [232].

Применение МС в сочетании с ВЭЖХ для высокочувствительного определения гидразинов в нативной форме осложнено относительно высоким уровнем шума в области низких значений m/z их характеристичных ионов. Однако известно несколько примеров использования МС (МС/МС) для определения НДМГ и продуктов его трансформации.

Авторы работы [233] сравнили возможность применения ИХ и ИПХ с МС детектированием с источником электрораспылительная ионизация (ЭРИ) для анализа водных растворов НДМГ, подвергнувшихся воздействию кислорода воздуха. В роли ИПР использовали перфтороктаноат аммония. Селективность разделения НДМГ и девяти идентифицированных продуктов его трансформации в варианте ИПХ была значительно лучше, чем в варианте ИХ. Однако из-за высокого уровня шума, связанного с присутствием в подвижной фазе ИПР, чувствительность определения уступала ИХ.

Авторы работы [234] использовали ИХ-ЭРИ-МС/МС для анализа кислотных экстрактов из почв с реальных мест пролива НДМГ. В несколько измененном виде методику [231] применили для определения продуктов трансформации НДМГ в почвах методом HPLC ВЭЖХ-ЭРИ-МС/МС [235]. Для извлечения компонентов из почв использовали смесь ацетонитрил/вода (90/10% об.) в атмосфере азота при 100°C и давлении 100 бар. Чувствительность оказалась в 2-4 раза больше, чем в ИХ варианте.

Преимуществом применения ВЭЖХ подходов для прямого определению гидразинов является то, что по большей части они не требуют сложной пробоподготовки и труднодоступного оборудования. Однако почти за четыре десятилетия развития таких подходов значимого увеличения чувствительности не достигнуто ($C_{\min} \geq \approx 1$ мкг/л). Методики, появившиеся в последние годы, в этом плане принципиально не отличаются от предыдущих, кроме более современного аппаратного оформления. Применение сорбционного концентрирования осложняется в силу ряда существенных недостатков, о которых упоминалось ранее. В то же время высокочувствительный метод ВЭЖХ-МС(МС/МС) имеет существенные ограничения при работе с малыми молекулами ($M < 150$ Да), и его

применение выглядит неоправданным. Все это говорит о том, что потенциал повышения чувствительности прямого определения гидразинов практически исчерпан. Помочь с решением этой проблемы может проведение дериватизации гидразинов с последующим ВЭЖХ определением производных.

Альтернативным и наиболее популярным подходом определения малых концентраций гидразинов является проведение предварительной дериватизации. Для этого, как правило, применяют те же реагенты и реакции, рассмотренные ранее в предыдущих разделах данного обзора. Задача определения гидразинов в реальных объектах в большинстве случаев сводится к получению их водных растворов в процессе пробоподготовки с применением подходов и способов извлечения, использующихся для их прямого определения (см. выше). В полученных растворах гидразинов проводят дериватизацию, контролируя выбранные условия реакции, такие как рН среды, температура и др. Далее реакционные смеси, как правило, сразу анализируют подходящим ВЭЖХ методом. Для дополнительной очистки, выделения и концентрирования образующихся гидрофобных производных используют методы ЖЖЭ и твердофазной экстракции (ТФЭ).

Для детектирования производных часто используют спектральные СФ или ФЛ детекторы, а подходящий вариант метода выбирают исходя из структуры и свойств продуктов дериватизации. Наибольшее распространение по историческим причинам и ввиду большей доступности оборудования получил СФ вариант детектирования, которое обычно проводят в максимуме поглощения дериватов.

Дериватизация является распространенным аналитическим приемом, применяемым при определении малых молекул методом ВЭЖХ-МС(МС/МС), для придания им оптимальных для метода характеристик, таких как подходящая молекулярная масса, высокая эффективность ионизации в условиях ЭРИ и ХИ, а также удобные для работы направления фрагментации [274, 275]. Увеличение молекулярной массы, как известно, снижает фоновый шум матрицы, который в диапазоне низких масс (<150 Да) обусловлен образованием заряженных низкомолекулярных кластеров компонентов подвижной фазы или образца в результате газозонных ион-молекулярных реакций в источнике ионов [276]. Также масса и заряд определяемого вещества может влиять на эффективность ионизации. Так, было показано, что, в целом, молекулы с большей массой подавляют сигнал

более мелких. При этом чем полярнее соединение, тем оно более восприимчиво к подавлению ионизации, в то время как присутствие органических растворителей обычно облегчает ее, особенно в режиме положительных ионов [277]. Применение реакционной ВЭЖХ-МС(МС/МС) может исправить недостатки, присущие прямому варианту определения гидразинов с МС детектированием, и помочь раскрыть весь потенциал в чувствительности данного метода.

Для определения Ги и его производных методом реакционной ВЭЖХ, как правило, используют реакции получения гидразонов с ароматическими альдегидами (табл. 7). Такие реакции обычно проводят в избытке реагента при определенном рН, который обеспечивают добавкой к реакционной смеси известных в аналитической практике буферных растворов на основе минеральных солей. Значения рН варьируется в широком диапазоне в зависимости от применяемого реагента, но чаще используют область слабокислого или нейтрального рН. Время проведения дериватизации выбирают не более 1 ч, а при необходимости для ускорения реакции используют нагревание реакционных смесей до 100°C.

В нормально-фазовой хроматографии (НФ) неподвижная фаза более полярна, чем подвижная. Удерживание определяется медленными полярными взаимодействиями целевых компонентов с поверхностью сорбента [213]. Ввиду высокой полярности гидразины сильно удерживаются на поверхности полярных фаз, поэтому их прямое определение в варианте НФ ВЭЖХ осложнено. С целью уменьшения удерживания их переводят в менее полярные производные с помощью предварительной дериватизации. Известно о применении метода НФ ВЭЖХ-СФ для определения НДМГ в природных объектах после дериватизации с 4НБА. Для замены растворителя с одновременным концентрированием гидразона в неполярную фазу использовали ТФЭ на патронах с ОФ сорбентом Диапак С16 [236].

Большее предпочтение в определении производных гидразинов отдается варианту ОФ ВЭЖХ, поскольку в этом режиме достигаются лучшие характеристики удерживания гидрофобных дериватов, а также благодаря широкому на сегодняшний день разнообразию колонок и простоте подбора условий для разделения.

Распространенным классом реагентов используемые для дериватизации гидразинов являются БА и его производные. Дериватизацию с БА использовали для определения Ги и его производных в объектах окружающей среды [237-239] и

фармпрепаратах [240, 241]. Для хемосорбции Ги из воздуха использовали трубки с сорбентом из сополимера стирол/дивинилбензола Amberlite XAD-2 с нанесенным реагентом [237]. Применение ТФЭ на ОФ картриджах Strata-C18E для отчистки и концентрирования производных позволило снизить пределы обнаружения ОФ ВЭЖХ-СФ определения [240] примерно в 20 раз (в пересчете на раствор $C_{\min} = 1$ мкл/л) по сравнению со значениями, достигнутыми авторами работ [238, 239]. Использование МС-детектирования в режиме SIM без концентрирования обеспечило еще большую чувствительность определения Ги методом ОФ ВЭЖХ на уровне 0.4 мкг/л в стандартном растворе [241].

Известно о применении нитропроизводных БА в качестве реагентов для дериватизации. Так, метод ОФ ВЭЖХ-МС/МС с предварительной дериватизацией 2НБА использовали для определения потенциального присутствия Ги в табачном дыме [242] с применением изотопного разбавления N_2^{15} -меченным Ги, а также одновременного определения Ги, МГ и НДМГ в плазме крови [243]. Популярный реагент 4НБА для ГХ определения НДМГ использовали для его определения в варианте ОФ ВЭЖХ-СФ в водных растворах [244]. Этот же реагент использовали для ОФ ВЭЖХ-СФ определения фенилГи в фармпрепаратах [245]. Преимуществом применения данного реагента является то, что образующиеся производные имеют максимумы поглощения в области 400 нм и более, что благоприятно для СФ-детектирования.

Производные БА с донорными гидрокси- и метокси-группами также нашли применение в определении гидразинов методом ОФ ВЭЖХ. Достаточно популярный реагент СА использовали для ОФ ВЭЖХ-СФ определения Ги и его производных в воде [246], фармпрепаратах [247-249] и в фруктах [250]. Применение СА [251] позволило провести определение пиразинамида, рифампицина, а также изониазида и четырех его метаболитов (Ги, ацетилГи, диацетилГи и ацетилизонизид) в плазме по схеме пробоподготовки, схожей с предложенной в работе [172]. Отмечено, что МГ образует неустойчивое производное с данным реагентом [246]. Поскольку гидразоны, как и гидразины электрохимически активны, авторы работы [252] использовали АД для определения гидразонов СА. Однако большой избыток реагента, также склонного к окислению, может вызывать отравление поверхности рабочих электродов, снижая стабильность работы АД.

Поэтому реакционная ОФ ВЭЖХ-АД не может конкурировать с прямым ИХ-АД определением гидразинов. Пределы обнаружения данных методик достаточно высоки (>25 мкг/л), однако очистка и концентрирование диметилгидразона СА с использованием ТФЭ на полипропиленовом сорбенте позволило снизить предел обнаружения даминозида до 1 мкг/кг [250].

Применение 4ГБА для определения Ги в плазме методом ОФ ВЭЖХ-СФ описано в работе [253]. Дериватизацию Ги с 4МБА предложили для его экспрессного и высокочувствительного определения в моче методом ОФ ультра-ВЭЖХ-МС/МС с использованием метода изотопного разбавления N_2^{15} -меченным Ги ($C_{\min} = 50$ нг/л) [254].

Примеры применения других производных БА немногочисленны. Определение изониазида и его основных метаболитов, в том числе Ги, в биологических жидкостях методом ОФ ВЭЖХ-СФ (C_n (Ги) = 10 мкг/л) после реакции с коричневым альдегидом и ОФ ВЭЖХ-МС/МС с предварительной дериватизацией 4МеБА описано в работах [255, 256]. В последнем случае предел обнаружения Ги составил 2 нг/л.

Известно о применении некоторых гетероциклических аналогов производных БА. Определение изониазида методом ОФ ВЭЖХ-СФ после дериватизации с метилзамещенными гетероциклическими альдегидами 6Ме2ПА и 5Ме2ФА в фармпрепаратах описано в работах [257, 258]. Авторы работы [259] для одновременного ВЭЖХ-СФ определения Ги, МГ и НДМГ в природных объектах использовали дериватизацию с 5Н2ФА, предложенным ими для СФ определения тех же аналитов [106], в варианте с пред- и постколоночным получением производных.

Использование бициклических реагентов для ВЭЖХ определения гидразинов распространено значительно реже. Пример определения примеси Ги в фармпрепаратах в виде производного с 2ГНА методом ОФ ВЭЖХ-СФ с ЖЖЭ раствором реагента в диметилсульфоксиде ($C_{\min} = 0.5$ мкг/л) описан в работе [260].

Существуют работы с применением ароматических диальдегидов, в том числе полициклических. Ранее рассмотренные реагенты ОФА, НДА и АДА (схема б), применявшиеся для ФЛ определения Ги, МГ и НДМГ [114, 115], использовали для их определения в варианте ОФ ВЭЖХ. Образующиеся интенсивно флуоресцирующие циклические производные с Ги и МГ определяли с помощью

ФЛ-детектирования [261-264]. Производные НДМГ обладают слабой флуоресценцией, поэтому могут быть определены со СФ-детектированием [262]. Реакция гидразинов с данными реагентами завершается всего за 1 мин при комнатной температуре, после чего реакционные смеси сразу анализируют без дополнительного концентрирования. Пределы обнаружения Ги и МГ в водных объектах после дериватизации с НДА составили 0.05 мкг/л [261, 262]. Применение трициклического АДА обеспечивает в 2 раза более чувствительное определение Ги в сточных водах ($C_{\min} = 0.02$ мкг/л) [263]. Напротив, использование другого реагента ОФА с меньшим размером ароматической системы для ОФ ультра-ВЭЖХ-ФЛ определения примеси Ги в фармпрепаратах характеризовалось меньшей чувствительностью ($C_{\min} = 0.3$ мкг/л (0.03 мг/кг)) [264]. ФЛ детектирование в ВЭЖХ, благодаря большей селективности, характеризуется более высоким отношением сигнал/шум по сравнению с СФ. Однако меньшая доступность этих детекторов, а также сложность подбора подходящего дериватирующего реагента, способного обеспечить высокую интенсивность флуоресценции в условиях ВЭЖХ, ограничивает разработку методик определения гидразинов с этим вариантом детектирования. Применение метода ультра-ОФ-ВЭЖХ-МС/МС с предварительной дериватизацией НДА обеспечило простое и высокочувствительное определение Ги в хлорированных водах ($C_{\min} = 3$ нг/л) [265].

Широкодоступные простейшие диальдегиды, такие как ГО и ГОК, обладают высокой растворимостью в воде и реакционной способностью по отношению к АГ. Авторы работы [266] исследовали возможность применения ГО и ГОК для одновременного определения МГ, гидроксиэтилгидразина (ГЭГ) и НДМГ методом ОФЭЖХ-СФ. Лучшей чувствительности удалось достигнуть с использованием в качестве группового реагента ГО (см. табл. 7). Использование ТФЭ на полимерном сорбенте Strata SDB-L с заменой растворителя позволило повысить чувствительность определения НДМГ ($C_{\min} = 5$ нг/л) [267]. Реакция ГО с Ги приводит к образованию множества продуктов поликонденсации, что делает невозможным применение данного реагента для его определения. В отличие от низкомолекулярных аналогов ГО и ГОК, реакция НДМГ с ФГО протекает заметно медленнее и требует нагревания до 70°C. Данный реагент предложен для

определения следовых количеств НДМГ в природных водах методом ОФ ВЭЖХ-МС/МС ($C_{\min} = 10$ нг/л) [268].

Другие типы реакций дериватизации гидразинов для их ВЭЖХ определения нашли меньшее применение. Дериватизацию с ХДНБФ использовали для определения Ги в природных водах [269]. Реакцию проводили в большом объеме пробы (200 мл) с последующей ЖЖЭ изоамиловым спиртом и анализом экстракта методом ОФ ВЭЖХ-СФ ($C_{\min} = 50$ нг/л). Для определения Ги, фенилГи и НДМГ в воздухе те же авторы предложили использовать хемосорбционные трубки с силикагелевым сорбентом, иммобилизованным ХДНБФ (схема 11). Ацетонитрильные смывы с сорбента анализировали ОФ ВЭЖХ-СФ [270].

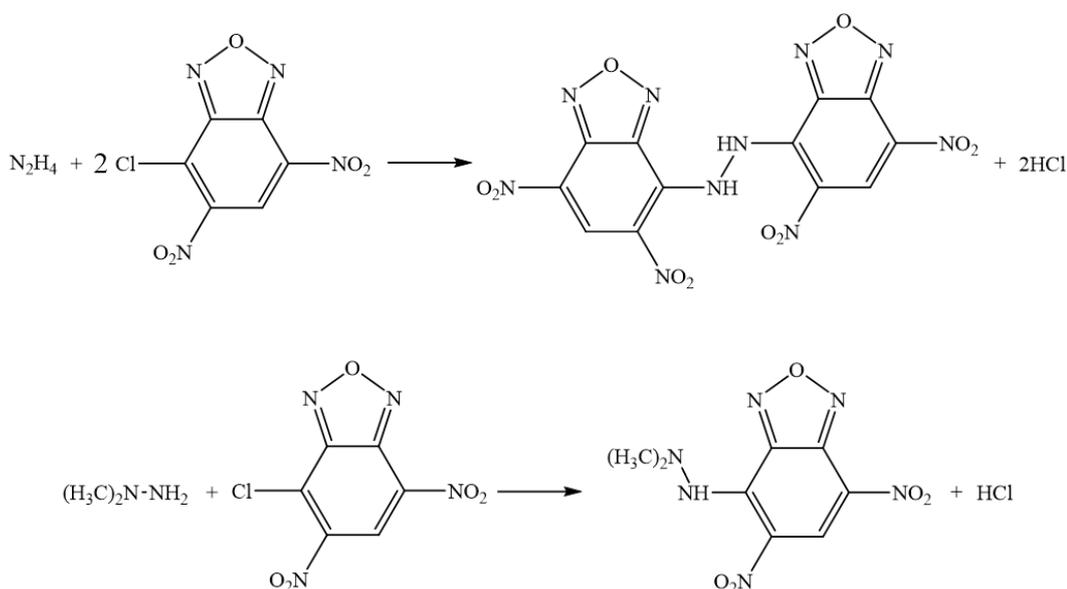


Схема 11. Реакция дериватизации Ги и НДМГ с ХДНБФ [269, 270]

Авторы работы [271] изучали фотоиндуцированную, термическую и химическую трансформацию лекарственного средства мельдония в одноименных фармпрепаратах с целью опровержения образования НДМГ при хранении. Для его определения предложили использовать реакцию ОФ ВЭЖХ-МС/МС с предварительной дериватизацией БХ. ЛДОК в образцах препарата с добавкой НДМГ составил 0.15-2.7 мг/кг.

ВЫВОДЫ ИЗ ОБЗОРА ЛИТЕРАТУРЫ. ПОСТАНОВКА ЦЕЛИ И ЗАДАЧ ИССЛЕДОВАНИЯ

Таким образом, задача определения следовых количеств таких супертоксиантов, как гидразины, ввиду их широкого применения в деятельности человека как никогда актуальна. Представленный обзор литературы показал, что большинство имеющихся методик посвящены определению Ги, а проблеме определения АГ и других производных уделяется гораздо меньше внимание.

Наиболее распространенными способами извлечения гидразинов из объектов с твердой матрицей ввиду их летучести и ярко выраженных полярных свойств является использование щелочной дистилляции в восстановительной среде или экстракции водными растворами минеральных кислот, что в конечном итоге приводит к получению водных растворов гидразинов, в которых затем и проводят их определение.

Среди методов определения гидразинов главенствующее положение заслуженно занимают высокоселективные хроматографические методы. Подходы к прямому определению гидразинов не способны обеспечить требуемую чувствительность ниже десятых долей мкг/л без применения дополнительного концентрирования. Однако из-за их крайней полярности извлечение гидразинов из водных растворов в нативной форме крайне осложнено, поскольку ни жидкостная, ни газовая, ни варианты ТФЭ с гидрофобными сорбентами не обеспечивают приемлемого извлечения. Сорбционное концентрирование на катионообменных колонках также имеет ряд ограничений и требует дополнительной пробоподготовки для удаления матричных катионов.

Получение гидрофобных производных гидразинов в результате реакций их дериватизации открывает возможность повышения чувствительности за счет извлечения и концентрирования производных. При этом дериватизация улучшает характеристики разделения и детектирования аналитов. Дополнительная стадия ЖЖЭ с последующим упариванием и заменой растворителя обязательна для определения дериватов гидразинов в ГХ и является очевидным и существенным недостатком данного метода. Высокочувствительное (на уровне современных требований санитарно-гигиенических нормативов) ОФ ВЭЖХ-СФ определение возможно только с использованием предварительного концентрирования

производных. При этом, как правило, для значительного выигрыша в чувствительности используют концентрирование из большого объема пробы. В результате увеличивается не только трудоемкость, общее время и стоимость такого анализа, но и ошибка определения в результате возможного мешающего влияния сконцентрированных примесей и потерь на стадии концентрирования.

Наиболее популярными реагентами для дериватизации гидразинов являются ароматические альдегиды. Преимущество применения данных реагентов – их избирательность по отношению к гидразинам в присутствии других нуклеофилов, таких как алифатические амины и спирты. Образующиеся гидразоны являются аналогами оснований Шиффа, но, в отличие от них, обладают большей устойчивостью, а их образование возможно в водной среде в широком диапазоне рН.

Стоит отметить, что большинство разработанных на сегодняшний день методик нацелены на высокочувствительное определение только одного аналита, а те немногие, предполагающие одновременное определение гидразинов, как правило, характеризуются недостаточной чувствительностью. При этом, этапу выбора реагента, изучения и подбора условий реакций дериватизации уделяется крайне мало внимания, хотя от степени завершенности реакции напрямую зависят как чувствительность, так и точность результата определения. Для задачи одновременного определения гидразинов крайне важно не только выбрать подходящий реагент для последующего детектирования производных, но и условия проведения дериватизации с этим реагентом, в которых будет обеспечен количественный выход всех производных.

С точки зрения современных требований к разрабатываемым методикам определения гидразинов в рутинном анализе наиболее перспективными методами являются ВЭЖХ с ФЛ- и МС-детектированием, благодаря их не только высокой селективности, но и потенциальной возможности обеспечить необходимую чувствительность без дополнительного концентрирования. Однако в случае использования ФЛ-детекторов резко сокращается выбор возможных групповых реагентов, способных образовывать с Ги и его производными интенсивно флуоресцирующие производные. Сочетание ВЭЖХ с МС, в особенности с тандемной МС, и дериватизацией подходящим реагентом является многообещающим подходом к одновременному определению ультрамалых

концентраций гидразинов в образцах со сложной матрицей, а благодаря своим возможностям, все большей доступности и повсеместному распространению соответствующего оборудования, имеет большой потенциал развития.

Дополнительное использование к масс-спектрометрическому СФ-детектирования, которым оснащают большинство современных жидкостных хромато-масс-спектрометров, и выбор дериватизирующего реагента, обеспечивающего оптимальные свойства производных для каждого варианта детектирования, позволит проводить регистрацию хроматограмм одновременно с помощью последовательно подключенной пары детекторов, расширив при этом ЛДОК гидразинов. Однако систематических исследований по разработке принципов выбора таких реагентов для дериватизации при определении гидразинов методами ВЭЖХ-СФ и ВЭЖХ-МС/МС не проводится, что затрудняет разработку новых высокочувствительных методик.

Исходя из вышесказанного, целью данного исследования являлась разработка нового подхода к одновременному высокочувствительному определению гидразинов в водных объектах методом ВЭЖХ-СФ-МС/МС с предварительной дериватизацией подходящим реагентом. Для этого следовало решить следующие задачи. Необходимо выявить закономерности протекания реакций дериватизации гидразинов, выбрать условия проведения дериватизации, в которых обеспечивается количественный выход всех производных и их устойчивость. С точки зрения повышения чувствительности необходимо определить влияние структуры реагента на аналитический сигнал в рамках методов ОФ ВЭЖХ-СФ и ОФ ВЭЖХ-МС/МС. Также необходимо выбрать условия определения продуктов дериватизации, и на основании обобщенных результатов, полученных на разных этапах работы, разработать новый подход к одновременному определению гидразинов.

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Реактивы, материалы и оборудование

2.1.1. Реактивы и материалы

В работе использовали следующие реактивы и материалы:

- гидразина сульфат (>99%), метилгидразин (>98%), 1,1-диметилгидразин (>98%), метиламина гидрохлорид (**МА**) ($\geq 98.0\%$), диметиламина гидрохлорид (**ДМА**) (99.0%), три(гидроксиметил)аминометан (**Трис**) (>99.9%), бензальдегид (>99%), безводный цитрат натрия (>99%), формиат натрия (>99%), триэтаноламин чистый (98%), декагидрат тетрабората натрия (>99.5%), дитиотреитол (**ДТТ**) (>98%), 2-нитробензальдегид (98%), 3-нитробензальдегид (99%), 4-нитробензальдегид (98%), 2-пиридинальдегид (**2ПА**) (99%) производства «Sigma Aldrich» (Германия).

- 2-нафталинальдегид (**2НА**) (>98%), 3-пиридинальдегид (**3ПА**) (>98%), 4-пиридинальдегид (>98%), 2-метоксибензальдегид (**2МБА**) (>98%), 3-метоксибензальдегид (**3МБА**) (>98%), 4-метоксибензальдегид (>99%), и 2-хинолинальдегид (**2ХА**) (97%) производства «TCI Chemicals» (Япония).

- ацетонитрил для хроматографии (99.9%), серная кислота (95%), ледяная уксусная кислота (99.7%), гидроксид натрия (98%), ацетат аммония (98%), дигидрат дигидрофосфата натрия (>99%), безводный гидрофосфат натрия (99%), формиат аммония (98%), ортофосфорная кислота (85%), муравьиная кислота (98%), соляная кислота (37%), хлорид аммония (99.5%) и глицин (99%) производства «Panreac» (Испания).

Для приготовления всех растворов использовали высокочистую воду с удельным сопротивлением 18.2 МОм·см, полученную с применением системы очистки воды Milli-Q (Millipore, США).

2.1.2. Хроматографическое оборудование

В работе использовали следующее хроматографическое оборудование:

1. **ВЭЖХ-СФ система «Agilent 1100»**, состоящая из двухканального градиентного насоса со смешением по высокому давлению, термостата колонок, дегазатора подвижной фазы, спектрофотометрического детектора на диодной

матрице с проточной ячейкой объемом 13 мкл и длиной оптического пути 10 мм 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).

2. **ИХ 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).

3. **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 ЭРИ. Для сбора и обработки данных использовалась программа Analyst v.1.5 (AB Sciex, Канада).

2.1.3. Хроматографические колонки

В работе использовали следующие хроматографические колонки:

1. **Колонки для ОФ ВЭЖХ:** 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).

2. **Колонки для ИХ:** Luna SCX (250 × 4.6 мм, 10 мкм) (Phenomenex, США).

2.1.4. Прочее оборудование

Для отбора точных аликвот использовали автоматические дозаторы с воздушным промежутком серии «Labmate» с диапазонами отбираемых объемов 5-50 мкл, 10-100 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл, 1000-5000 мкл, с пределом допустимой погрешности измерения не более $\pm 1-5\%$ в зависимости от объема аликвоты (НТЛ, Польша).

Взвешивание точных навесок проводили на аналитических весах Explorer Pro (Ohaus Corporation, США) с точностью измерения до ± 0.0005 г. Для измерения pH использовали иономер РВ-11 (Sartorius, Германия). Термостатирование реакционных смесей в пластиковых пробирках типа «Eppendorf» проводили в твердотельном термостате Т-1 (Biosan, Латвия). Для проведения дегазации подвижной фазы для ИХ ВЭЖХ использовали ультразвуковую (УЗВ) ванну УЗВ-4,0 ТТЦ («ПКФ Сапфир», Россия).

2.1.5. Объекты исследования

Образцы озерной воды (оз. Имандра, Мурманская обл.) предоставлены сотрудниками отдела радиационной безопасности Кольской АЭС. Образцы питьевых вод отобраны на территории г. Москвы и Московской обл. Данные образцы, не содержавшие гидразины, хранили при $+4^{\circ}\text{C}$ в емкостях из темного стекла емкостью 1 л, с добавкой 0.5 мл концентрированной серной кислоты в качестве консерванта.

2.2. Техника эксперимента

2.2.1. Приготовление растворов

2.2.1.1. Приготовление растворов гидразинов

Исходные растворы Ги, МГ и НДМГ с концентрацией 1000 мг/л готовили растворением точной навески в деионизированной воде, добавляя в качестве консерванта 1 М раствор серной кислоты до фонового содержания 10 мМ. Растворы хранили при $+4^{\circ}\text{C}$ не более месяца и использовали для приготовления всех необходимых рабочих растворов с меньшими концентрациями разбавлением 10 мМ

серной кислотой непосредственно в день проведения соответствующего этапа эксперимента.

2.2.1.2. Приготовление растворов дериватизирующих реагентов

Раствор ДТТ с концентрацией 30 г/л и «Растворы № 1-3» дериватизирующих реагентов (табл. 8) готовили растворением точных навесок в ацетонитриле и хранили при +4°C не более недели.

Таблица 8. Используемые растворы дериватизирующих реагентов в ацетонитриле

Реагент	Раствор №	Концентрация, г/л
БА, 2ПА, 3ПА, 4ПА	1	4.3
	2	17.2
	3	68.8
2МБА, 3МБА, 4МБА	1	5.5
	2	22
	3	88
2НБА, 3НБА, 4НБА	1	6
	2	24
2НА, 2ХА	1	6.3

2.2.1.3. Приготовление некаталитических буферных растворов

Для обеспечения необходимого рН реакционной среды использовали следующие буферные растворы: формиатный (4.0 М; рН 3.0±0.1), цитратный (1.5 М; рН 4.0±0.1, 5.0±0.1), фосфатный (2.0 М; рН 6.0±0.1, 7.0±0.1), на основе триэаноламина (4.0 М; рН 8.0±0.1), тетраборатный (0.1 М; рН 9.0±0.1, 10.0±0.1), а также раствор серной кислоты (10 мМ; рН 2). Вышеперечисленные растворы готовили растворением точного количества соответствующих твердых солей или чистых веществ в деионизированной воде, величину рН регулировали добавлением растворов сопряженной кислоты или основания, контролируя его значение рН-метром.

2.2.1.4. Приготовление каталитических буферных растворов

Для обеспечения необходимого рН реакционной среды также применяли каталитические буферные растворы с концентрацией 3.3 М на основе глицина, хлорида аммония, МА, ДМА и Трис в диапазоне рН 5.0–11.5. Требуемой величины рН добивались добавлением растворов 10 М гидроксида натрия или концентрированной соляной кислоты к раствору соответствующих веществ в деионизированной воде, контролируя ее значение рН-метром.

Глициновый буферный раствор (ГБР) с концентрацией 3.3 М и рН 8.5 готовили растворением навески глицина массой 2.5 г в 10 мл деионизированной воды и добавкой 150 мкл раствора 10 М гидроксида натрия и использовали непосредственно в день проведения соответствующего этапа эксперимента.

2.2.2. Схема выбора условий реакций дериватизации гидразинов

В рамках однофакторной оптимизации последовательно подбирали условия проведения реакции дериватизации, варьируя требуемый параметр при постоянных значениях других. Дериватизацию проводили непосредственно в хроматографических виалах из темного стекла.

2.2.2.1. Значение рН

Некаталитические буферные растворы. К 1 мл растворов гидразинов с концентрациями по 1 мг/л добавляли 200 мкл соответствующего некаталитического буферного раствора²² и 25 мкл «раствора № 1» соответствующего дериватирующего реагента. Полученные смеси оставляли без доступа света при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) и анализировали методом ОФ ВЭЖХ-СФ через 30 мин после добавления реагента.

Каталитические буферные растворы. К 1 мл растворов гидразинов с концентрациями по 1 мг/л добавляли 200 мкл соответствующего каталитического буферного раствора и 25 мкл «раствора № 1» БА. Полученные смеси оставляли без доступа света при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) и анализировали методом ОФ ВЭЖХ-СФ через 5 мин после добавления реагента.

2.2.2.2. Концентрация буферного раствора

К 1 мл растворов гидразинов с концентрациями по 1 мг/л добавляли 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500 мкл ГБР (3.3 М, рН 8.5) и 25 мкл «раствора № 1» БА. Полученные смеси оставляли без доступа света при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) и анализировали методом ОФ ВЭЖХ-СФ через 5 мин после добавления реагента.

²² В случае боратного буферного раствора ввиду его меньшей буферной емкости в пробу дополнительно добавляли 20 мкл 1 М раствора NaOH для нейтрализации фонового содержания 10 мМ H₂SO₄

2.2.2.3. Концентрация реагента

К 1 мл растворов гидразинов с концентрациями по 1 мг/л добавляли 200 мкл ГБР (3.3 М, рН 8.5) и 5, 10, 20, 50 мкл «раствора № 1», 25, 50 «раствора № 2» или 25 мкл «раствора № 3» соответствующего дериватизирующего реагента. Полученные смеси оставляли без доступа света при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) и анализировали методом ОФ ВЭЖХ-СФ через 10 мин.

2.2.2.4. Температура и продолжительность реакции

К 1 мл растворов гидразинов с концентрациями по 100 мкг/л добавляли 200 мкл ГБР (3.3 М, рН 8.5) и 25 мкл раствора ДТТ. Затем в смесь вносили необходимый объем раствора соответствующего реагента: 25 мкл «раствора № 1» 4МБА; 50 мкл «раствора № 1» 4НБА, 2НА или 2ХА; 25 мкл «раствора № 2» для БА, 3МБА или 4МБА; 50 мкл «раствора № 2» 2НБА и 3НБА; 25 мкл «раствора № 3» для 2ПА, 3ПА или 4ПА. Пробы выдерживали при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) и 40, 60, 80°C в твердотельном термостате Т-1 (Biosan, Латвия) и через 2, 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 и 120 мин анализировали методом ОФ ВЭЖХ-СФ.

2.2.2.5. Процедура определения гидразинов в образцах вод

Пробы природных и питьевых вод с известной добавкой гидразинов в диапазоне ($1-10^6$ нг/л) фильтровали через шприцевые насадки с гидрофобной мембраной из политетрафторэтилена Chromafil Xtra PTFE с диаметром мембраны 25 мм и размером пор 45 мкм «Macherey-Nagel» (Германия). К 1 мл образца добавляли 200 мкл ГБР (3.3 М, рН 8.5) и 25 мкл раствора ДТТ. Затем в смесь вносили необходимый объем раствора соответствующего реагента: 25 мкл «раствора № 1» 4МБА; 50 мкл «раствора № 1» 4НБА, 2НА или 2ХА; 25 мкл «раствора № 2» для БА, 3МБА или 4МБА; 50 мкл «раствора № 2» 2НБА и 3НБА; 25 мкл «раствора № 3» для 2ПА, 3ПА или 4ПА. Полученные смеси оставляли без доступа света при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) до завершения реакции, после чего проводили анализ методом ОФ ВЭЖХ-СФ или ОФ ВЭЖХ-МС/МС.

2.2.3. Условия хроматографического анализа

2.2.3.1. ВЭЖХ-СФ анализ

Для разделения компонентов использовали хроматографическую колонку ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD 95 Å (3.0×50 мм, 1.8 мкм). Температура

термостата колонки составляла 30°C, а скорость потока подвижной фазы – 0.4 мл/мин. Подвижной фазой являлась смесь 10 мМ раствора ацетата аммония (ААР) с рН 7.0±0.1 и ацетонитрила, содержание которого меняли по градиентной программе в зависимости от применяемого реагента.

Детектирование и получение электронных спектров поглощения в диапазоне 200-400 нм (с шагом 2 нм) осуществляли с помощью диодноматричного детектора с шириной оптической щели 4 нм и временем отклика 0.5 с. Состав подвижной фазы и выбранные длины волн для детектирования представлены в табл. 9. Объем вводимой пробы составлял 100 мкл.

Таблица 9. 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)

2.2.3.2. ИХ ВЭЖХ-АД анализ

ИХ анализ проводили по измененной методике [221] с использованием колонки (250 × 4.6 мм, 10 мкм) Luna SCX (Phenomenex, США). Температура термостата колонки не контролировалась. В качестве подвижной фазы применяли предварительно дегазированный УЗВ 100 мМ ААР с рН 5.4 и добавкой 25 % об. ацетонитрила. Скорость потока подвижной фазы составляла 1.0 мл/мин. Амперометрическое детектирование проводили при постоянном потенциале +1.3 В. Объем вводимой пробы составлял 100 мкл.

2.2.2.3. Схема выбора условий МС/МС-детектирования

Для выбора условий МС/МС-детектирования в рамках метода однофакторной оптимизации проводили анализ реакционных смесей, полученных в выбранных условиях реакции с концентрацией гидразинов 100 мкг/л. Условия разделения были аналогичными ОФ ВЭЖХ-СФ (см. табл. 9). Объем вводимой пробы составлял 100 мкл. Последовательно подбирали следующие параметры:

Выбор иона-предшественника. Детектирование осуществляли в режиме SCAN в диапазоне m/z 70-700 при потенциале декластеризации (ПД) 20 В и времени одного цикла сканирования 500 мс.

Выбор ПД. Детектирование осуществляли в режиме SIM по соответствующему иону-предшественнику при ПД 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 В и времени регистрации каждого перехода 20 мс.

Выбор рН подвижной фазы. В качестве подвижной фазой использовали смесь 10 мМ раствора формиата аммония (рН 3.0 ± 0.1) или 10 мМ ААР (рН 3.0 ± 0.1 , 5.0 ± 0.1 , 7.0 ± 0.1 , 9.0 ± 0.1) и ацетонитрила, содержание которого менялось по градиентной программе в зависимости от применяемого реагента (см. табл. 9). Детектирование осуществляли в режиме SIM по соответствующему иону-предшественнику при оптимальных ПД и времени регистрации каждого перехода 50 мс.

Получение спектров соударения. Детектирование осуществляли в режиме SCAN ионов-продуктов при энергиях соударения (ЭС) 20, 40, 60 В и времени регистрации каждого перехода 500 мс.

Определение ЭС ММР-переходов. Детектирование осуществляли в режиме ММР при ЭС 10, 20, 30, 40, 50, 60 В и времени регистрации каждого перехода 20 мс.

2.2.2.3. ОФ ВЭЖХ-МС/МС анализ

Для разделения компонентов использовали хроматографическую колонку ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD 95 Å (3.0×50 мм, 1.8 мкм). Температура термостата колонки составляла 30°C, а скорость потока подвижной фазы – 0.4 мл/мин. Подвижной фазой являлась смесь 10 мМ ААР (рН 9.0 ± 0.1) и ацетонитрила, содержание которого менялось по градиентной программе в зависимости от применяемого реагента (см. табл. 9). Объем вводимой пробы составлял 100 мкл.

Таблица 10. Выбранные условия МС/МС детектирования

Реагент	Гидразин	Время сегмента, мин	ПД, В	M ^a , m/z	M ₁ ^b (ЭС, В), m/z	M ₂ ^b (ЭС, 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; ^b ион-продукт для количественного анализа; ^b ион-продукт для качественного анализа; ^г диагностическое соотношение

Масс-спектрометрическое детектирование проводили с использованием ЭРИ, в режиме регистрации положительно заряженных ионов при следующих

постоянных параметрах: напряжение на распыляющем капилляре – 5500 В, температура источника ионов – 250°C, давление газа для распыления подвижной фазы – 30 psi²³, осушающего газа – 40 psi, завесного газа (N₂) – 11 psi. В качестве газа в ячейке соударений использовали азот. Задержка сбора хромато-масс-спектрометрических данных составляла примерно 1.5 мин, и управлялась внешним краном-переключателем потока к детектору. Регистрацию выбранных ММР-переходов осуществляли в соответствии с временем выхода соответствующего производного гидразина. В табл. 10 представлены выбранные условия МС/МС детектирования, а также диагностические отношения для идентификации гидразонов, установленные в данной работе. Временя регистрации каждого перехода составляло 50 мс.

²³ Внесистемная единица измерения давления (1 psi = 0.068948 бар)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИЙ ДЕРИВАТИЗАЦИИ ГИДРАЗИНОВ С АРОМАТИЧЕСКИМИ АЛЬДЕГИДАМИ²⁴

В данной работе исследовали возможность применения групповых реагентов класса ароматических альдегидов для одновременного определения Ги, МГ и НДМГ в водных объектах. Для оценки эффективности применения данных реагентов следовало исследовать закономерности образования соответствующих производных в водных средах, их удерживание и устойчивость в условиях ОФ ВЭЖХ. Кроме того, изучение электронных спектров поглощения может предоставить дополнительную полезную информацию о строении и свойствах получаемых производных гидразинов. Выбор условий проведения реакций дериватизации гидразинов с ароматическими альдегидами осуществляли с помощью ОФ ВЭЖХ-СФ. Образование соответствующих гидразонов и азинов подтверждали методом ОФ ВЭЖХ-ЭРИ-МС.

3.1. Взаимодействие гидразинов с карбонильными соединениями

Ги и его производные со свободной NH₂-группой, как уже отмечалось, благодаря наличию неподеленной пары электронов атома азота, обладают ярко выраженным нуклеофильным свойствам и способны к взаимодействию с такими электрофильными агентами как, карбонильные соединения (схема 4), что является

²⁴При подготовке данной и последующих глав диссертации использованы следующие публикации, выполненные автором лично или в соавторстве, в которых, согласно Положению о присуждении ученых степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: 1. **Timchenko Yury V.**, Stavrianiidi 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, DOI: [10.1016/j.chemosphere.2021.130747](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130747) (Импакт-фактор Web of Science – 6.956, **Q1**), 90%

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, DOI: [10.31857/S004445022110011X](https://doi.org/10.31857/S004445022110011X) (Импакт-фактор RSCI – 0.996), 90% (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, DOI: [10.1134/S1061934821100117](https://doi.org/10.1134/S1061934821100117) (Импакт-фактор Web of Science – 1.055, **Q4**), 90%)

3. **Тимченко Ю.В.**, Беликова И.В., Смоленков А.Д., Пирогов А.В., Шпигун О.А. Определение 1,1-диметилгидразина в воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием с применением мицеллярного катализа для получения производных. // Завод. лабор. Диагн. матер. 2020. Т. 86. №. 9. С. 14-23, DOI: [10.26896/1028-6861-2020-86-9-14-23](https://doi.org/10.26896/1028-6861-2020-86-9-14-23) (Импакт-фактор RSCI – 0.243), 90%

давно известным и общим способом получения соответствующих гидразонов и азинов (в случае Ги). Электрофильные свойства карбонильных соединений обусловлены делокализацией частичного положительного заряда на атоме углерода карбонильной группы, в результате разницы электроотрицательности и сильной поляризации связи $\delta^+C=O\delta^-$ со сдвигом электронной плотности к кислороду. Данная реакция относится к типу реакции конденсации и, как большинство из них, является полностью обратимым многостадийным процессом. Образование гидразонов происходит практически нацело в апротонных полярных средах или при взаимодействии чистых веществ. В водных или водно-органических средах выход и скорость реакции имеют сильную зависимость от pH реакционной смеси [278-282].

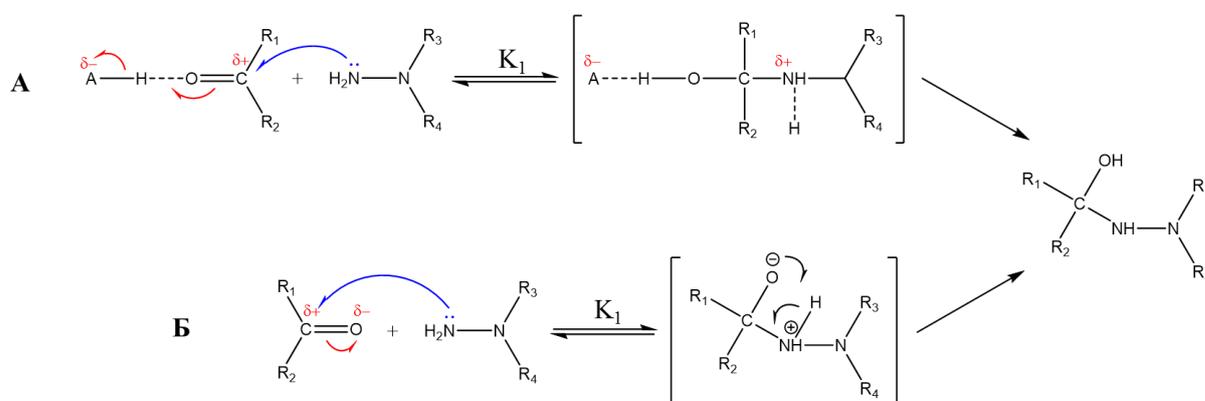


Схема 12. Механизм образование гидразинокарбинола в кислой (А) и нейтральной или щелочной средах (Б) [281]

Первой стадией процесса является нуклеофильное присоединение гидразина по NH₂-группе к электронодефицитному атому углерода карбонильной группы с образованием гидразинокарбинола. В кислой среде присоединение облегчается ввиду большей поляризации связи C=O карбонильной группы в присутствии доноров протонов (схема 12А). В нейтральных и щелочных средах образование гидразинокарбинола происходит из цвиттер-ионного промежуточного интермедиата (схема 12Б) [279, 281].

Гидразинокарбинол является неустойчивым соединением и существуют в реакционной смеси относительно непродолжительное время. Последующая его дегидратация с образованием гидразонной связи может происходить либо самопроизвольно в нейтральном pH, либо катализироваться в присутствии кислот или оснований. Отщепление молекулы воды от промежуточного гидразинокарбинола в рамках общего кислотного и основного катализа протекает по

согласованному механизму через переходные состояния с участием молекул акцепторов и доноров протонов, в том числе молекул растворителя (схема 13). Образование же заряженных высокоэнергетических интермедиатов ввиду их неустойчивости считается маловероятным [279, 280].

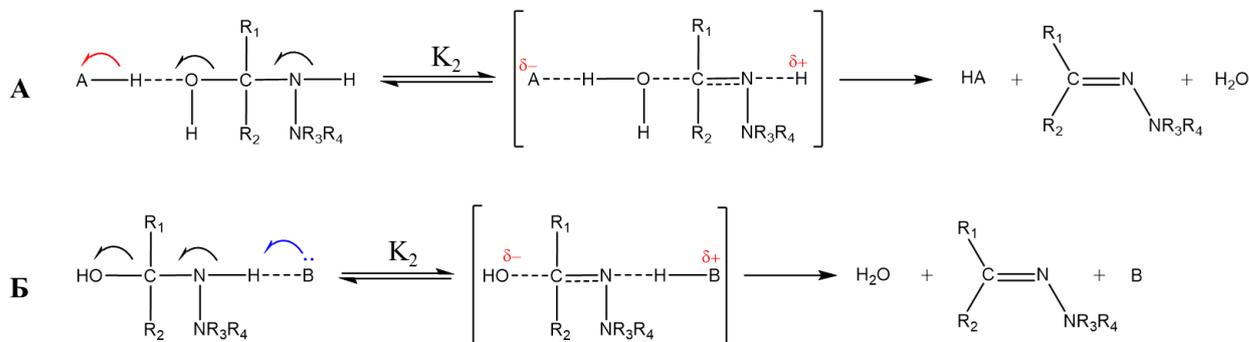


Схема 13. Согласованный механизм общего кислотного (А) и основного катализа (Б) дегидратации гидрозинокрбинола [279, 280]

Значения констант равновесия нуклеофильного присоединения (K_1) в общем случае может варьироваться от 10^{-2} до 10^2 в зависимости от структуры карбонильного соединения и слабо зависят от природы гидразина [278, 280]. В то же время, константы равновесия дегидратации гидрозинокрбинола (K_2) чувствительны к природе реагирующего гидразина и уменьшаются с увеличением pK_a гидразина, однако при этом в большинстве случаев значения констант образования гидразонов все равно достаточно велики ($>10^3$) [280, 282]. Остальные процессы, приводящие к конечному продукту очень быстрые и не лимитируют данную реакцию [279, 280]. Таким образом общие константы равновесия образования гидразонов могут составлять от 1-10 и выше [278, 280, 281]. Стоит отметить, что аналогичные значения констант образования оснований Шиффа в водных средах для ароматических аминов менее 0.01, в то время как для алифатических аминов эти значения еще меньше [283]. Данный факт, говорит о значительно большей термодинамической стабильности гидразонов по сравнению с их аналогами основаниями Шиффа, за счет дополнительного сопряжения $C=N$ -связи с неподеленной парой соседнего атома азота [279].

Скорость образования гидразона будет определяться самой медленной из двух стадий: присоединения гидразина к карбонильной группе и дегидратации гидрозинокрбинола, сильно зависящих от pH среды. При низких значениях pH гидразины находятся преимущественно в протонированной форме, поэтому ввиду

низкой концентрации свободной формы скорость нуклеофильного присоединения будет невелика. С другой стороны, скорость дегидратации гидрозинокарбинола в кислой среде подчиняется общему кислотному катализу и увеличивается с уменьшением рН. С ростом рН примерно до pK_a гидразина будет увеличиваться содержание его свободной формы, а с ним и скорость стадии образования гидрозинокарбинола, в то же время скорость кислотной дегидратации которого будет уменьшаться. Результатом комбинации этих конкурирующих процессов будет образование максимумов на графиках зависимости «рН–скорость образования гидразонов». Дальнейшее увеличение рН будет приводить к увеличению скорости дегидратации гидрозинокарбинола за счет общего основного катализа [278-280]. В значительном избытке карбонильного соединения скорость образования гидразона лимитирована отщеплением молекулы воды и является реакцией первого порядка. Ги реагирует с избытком реагента сразу по двум аминогруппам [279].

Проявления механизма общего основного катализа становится более выражено с увеличением электроноакцепторных свойств заместителей в гидразиновой части гидрозинокарбинола, в то время как кислотного наоборот с увеличением электронодонорных свойств. Однако последний в общем случае является более предпочтительным ввиду значительной разницы в константах скоростей данных процессов ($>10^2$) [280].

Таким образом, для каждой пары «гидразин–карбонильное соединение» существует оптимальное значение рН реакционной среды, в котором наблюдается лучшие характеристики реакции (скорость и выход продукта). При этом следует учитывать, что альдегиды значительно легче реагируют с гидразинами, чем кетоны, что связано с их большей электрофильностью и существенно меньшими стерическими затруднениями как для нуклеофильной атаки, так и для последующего согласованного отщепления воды [279]. Кроме того, установлено, что повышение температуры вызывает полностью обратимое смещение равновесия реакции образования гидразонов в сторону исходных веществ. Так, общая константа равновесия реакции Ги с 4ДАБ с увеличением температуры на 50°C уменьшается более чем в 10 раз [284].

Фиксированное положение заместителей у двойной связи C=N по аналогии с алкенами делает возможным существование геометрической изомерии у гидразонов и азинов. Для гидразонов возможны два син-и анти-изомера²⁵ (схема 14).

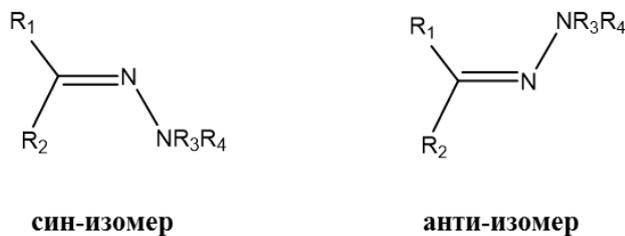


Схема 14. Син- и анти-изомерия гидразонов

Для симметричных азинов с учетом конформеров возможно образование шести стереоизомерных форм, из которых только три являются незапрещенными из стерических соображений и могут быть выделены (схема 15) [279, 285].

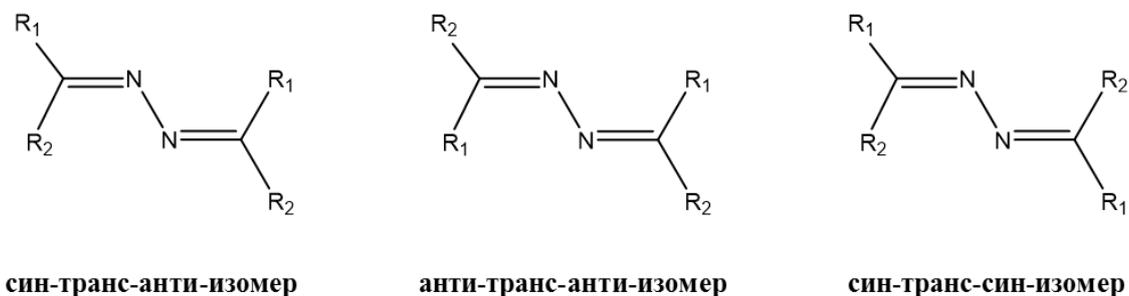


Схема 15. Стереоизомерия симметричных азинов

Образующиеся гидразоны и азины всегда существуют в виде смеси син- и анти-изомеров в определенных соотношениях. Эти формы могут переходить друг в друга, при этом равновесие между ними достаточно быстро устанавливается в присутствии следов кислот. Равновесные соотношения между формами почти не зависят от природы гидразина и определяются строением исходного карбонильного соединения. Ввиду стерических соображений доля син- изомеров в смеси, как правило, выше и составляет более 60% [285].

Гидразоны являются достаточно реакционноспособными, но менее активными чем исходные гидразины соединениями, и могут вступать в широкий перечень реакций с различными электрофильными и нуклеофильными агентами,

²⁵ син-Изомером считается тот, который имеет в цис-положении к NR₃R₄-группе меньший радикал R₂ группы R₁R₂C=N. Транс-изомером называется тот, в котором двойные связи C=N азинов находятся в транс-положении к друг другу относительно связи N-N, вращение вокруг которой ограничено вследствие сопряжения и ее частично двойного характера.

циклоприсоединения и циклизации, окисления-восстановления [279, 285], обмена с другими гидразинами [286] и гидролиза [287, 288].

При разработке подходов к определению гидразинов с предварительной дериватизацией с помощью карбонильных соединений крайне важно учитывать рассмотренные выше особенности таких реакций, поскольку от правильного выбора реагента и условий проведения дериватизации напрямую зависят основные характеристики методики, такие как правильность, воспроизводимость и чувствительность определения.

3.2. Обоснование выбора дериватирующих реагентов

Благодаря селективности карбонильных соединений в реакциях с соединениями, содержащими NH_2 -группу, а также заметной разнице в термодинамической устойчивости гидразонов и оснований Шиффа, их применение в качестве селективных групповых реагентов для дериватизации гидразинов является более предпочтительным по сравнению с использованием дериватирующих реагентов других классов органических соединений. Ароматические альдегиды более реакционноспособны в данном типе реакций, чем аналогичные кетоны и способны образовывать гидразоны в водных средах с приемлемой скоростью и выходом. Кроме того, образующиеся производные, благодаря наличию ароматической системы сопряженных двойных связей, будут обладать высокими значениями молекулярных коэффициентов поглощения в оптическом диапазоне электромагнитного спектра, а также набором интенсивных характеристичных ММР-переходов в результате фрагментации в условиях ЭРИ-МС/МС детектирования.

Простейшим представителем таких ароматических реагентов является БА. Введение в его структуру дополнительных групп и фрагментов вызывает изменение пространственной ориентации связей и распределения электронной плотности в молекуле, что неизбежно отразится на свойствах и реакционной способности таких реагентов в реакциях с гидразинами, а также на характеристиках детектирования соответствующих гидразонов. Поэтому эффективность применения конкретного группового реагента для определения гидразинов будет определяться его химическим строением.

Заместители в ароматических соединениях делят на две группы – донорные и акцепторные, наиболее известными из которых являются метокси-(CH₃O-) и нитрогруппы (-NO₂) соответственно. Гетероциклические аналоги БА пиридинового ряда не получили широкого применения для дериватизации гидразинов, однако благодаря наличию ионогенного атома азота в составе соответствующих производных, весьма перспективны с точки зрения повышения эффективности ионизации, а следовательно, и чувствительности в условиях ЭРИ-МС(МС/МС) детектирования. Изменение положения этих групп будет влиять на свойства получаемых дериватов. Дополнительные конденсированные ароматические кольца в структуре ароматических альдегидов могут повысить чувствительность определения за счет увеличения системы сопряженных связей и молекулярной массы гидразонов.

Для выявления закономерностей влияния структуры дериватирующего реагента на характеристики определения Ги, МГ и НДМГ в работе использовали следующие 12 ароматических альдегидов: БА и его замещенные производные с различным взаимным расположением метокси- (2МБА, 3МБА и 4МБА) и нитрогрупп (2НБА, 3НБА и 4НБА), пиридиновые альдегиды без заместителей с различным положением гетероатома (2ПА, 3ПА и 4ПА), а также бициклический 2НА и его гетероциклический аналог 2ХА. Перечисленные реагенты ранее не использовались для одновременного определения указанных гидразинов (кроме 2НБА), а 6 из них (2МБА, 3МБА, 2НА, 2ХА, 2ПА, 3ПА) предлагаются впервые.

3.3. Выбор условий хроматографического разделения

В ВЭЖХ выбор подходящего состава подвижной и природы неподвижной фаз является основным способом добиться эффективного и селективного разделения аналитов. Образующиеся гидразоны являются более гидрофобными соединениями, чем исходные альдегиды за счет наличия алкильных радикалов в гидразиновой части в случае гидразонов АГ, а в случае азинов – дополнительного гидрофобного фрагмента карбонильного соединения. В условиях ОФ ВЭЖХ удерживание производных гидразинов увеличивается в ряду МГ<НДМГ<Ги. Образующиеся гидразоны имеют в своей структуре атомы азота, которые могут участвовать в полярных взаимодействиях со свободными силанольными группами матриц

гидрофобизированных силикагелей, что приводит к ухудшению формы пика и, как следствие, к повышению C_{min} [289]. Кроме того, 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.

Для разделения компонентов были опробованы четыре ОФ хроматографических колонки, заполненные гидрофобизированными силикагелями с привитыми октадецильными группами, разной длины (5-25 см), разного размера частиц (1.8-5.0 мкм), двойным эндкеппингом и устойчивые в широком диапазоне единиц рН (2.0-9.0) (см гл. 2.1.3). Неподвижная фаза ZORBAX Extend C18, благодаря наличию бидентатных C18-C18 связей, устойчива в области высоких рН (до 11.5), а ZORBAX Eclipse XDB-C18 и ZORBAX Eclipse Plus C18 имеют схожую структуру поверхности и отличаются размером пор сорбента. Данные фазы используют для разделения нейтральных, кислотных и основных соединений, и ранее уже применялись для разделения гидразонов.

Для подбора условий разделения проводили получение смеси гидразонов в модельных растворах с исходной концентрацией гидразинов по 1 мг/л и реагента 0.8 мМ. Для создания рН реакционной среды использовали ФБР с рН 6.0 ± 0.1 , часто используемый для дериватизации гидразинов (см. гл. 1). Реакцию проводили при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) в течении 1 ч с последующим ОФ ВЭЖХ-СФ анализом при длине волны 300 нм. Разделение проводили в градиентном режиме при скорости потока 0.4 мл/мин, а в качестве подвижной фазы использовали смесь ацетонитрила и ААР с рН 7.0 ± 0.1 , при котором исключается кислотный гидролиз производных во время анализа [287, 288]. Критерием выбора состава подвижной фазы (% об. ацетонитрила) было максимально возможное разделение компонентов за минимальное время.

Все использованные неподвижные фазы позволяют добиться полного разделения компонентов. Разделение гидразонов МГ и реагента достигается только при больших значениях коэффициентов емкости (k'), а азины характеризуются сильным удерживанием. Поэтому с целью выбора подходящей колонки и оценки их эффективности, а также влияния их параметров (длины, размера частиц) и природы неподвижных фаз на величину аналитического сигнала проводили сравнение

характеристик пиков гидразонов НДМГ в изократическом режиме на примере БА, 2НА, 2ПА и 2ХА производных (табл. 11, табл. П1).

Таблица 11. Оценка эффективности колонок при разделении диметилгидразонов

	БА		2НА	
Колонка	k'	$N_{y\delta} \cdot 10^6$, ТТ/м	k'	$N_{y\delta} \cdot 10^6$, ТТ/м
1	3.1	1.03	4.1	1.06
2	3.2	0.77	4.5	1.11
3	3.6	1.44	4.3	1.62
4	3.4	4.20	3.7	4.27
	2ПА		2ХА	
Колонка	k'	$N_{y\delta} \cdot 10^6$, ТТ/м	k'	$N_{y\delta} \cdot 10^6$, ТТ/м
1	2.5	0.91	3.6	0.75
2	3.0	0.81	3.9	1.10
3	2.9	1.27	3.9	1.50
4	2.8	4.00	2.6	4.98

1 - ZORBAX Eclipse XDB-C18 80Å (4.6 × 150 мм, 5 мкм), **2** - ZORBAX Extend 80Å C18 (4.6 × 250 мм, 5 мкм), **3** - ZORBAX Eclipse Plus C18 95Å (3.0 × 150 мм, 3.5 мкм), **4** - ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD 95Å (3.0 × 50 мм, 1.8 мкм)

Время неудерживаемого компонента (t_m) для каждой колонки оценивали по времени выхода пика ацетона. Коэффициенты емкости рассчитывали по следующей формуле:

$$k' = (t_R - t_m) / t_m$$

где t_R – время удерживания диметилгидразона. Также была оценена эффективность разделения по числу теоретических тарелок на единицу длины для каждой колонки ($N_{y\delta}$):

$$N = 16 \cdot (t_R / W)^2$$

$$N_{y\delta} = N / L$$

где t_R – время удерживания диметилгидразона, W – ширина пика у основания, L – длина колонки.

Для всех исследованных хроматографических колонок не наблюдали значимого влияния природы неподвижной фазы и времени движения целевых компонентов по колонке на значения площадей их пиков. Поэтому колонка

ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD 95Å (3.0 × 50 мм, 1.8 мкм), обеспечивающая лучшую эффективность, была выбрана для дальнейших исследований.

3.4. Выбор условий спектрофотометрического определения

Длина волны поглощения является главным параметром любого СФ определения, от правильного выбора которого может напрямую зависеть селективность и чувствительность такого определения. Наибольшая чувствительность, как правило, достигается при длине волны максимума поглощения определяемого компонента. С целью определения оптимальной длины волны, 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. 2, рис. П1). Спектры получали с использованием диодно-матричного детектора, который позволяет в динамическом режиме получать оптические спектры с высокой точностью в этой области ультрафиолетового спектра, где в качестве образца сравнения используется подвижная фаза.

В табл. 12 представлены значения длин волн, соответствующие максимумам поглощения исследованных гидразонов. Поскольку использование СФ детекторов не позволяет определять абсолютные значения молекулярных коэффициентов поглощения (ϵ), для оценки поглощающей способности гидразонов и влияния на нее положения и природы функциональных групп рассчитывали относительные молекулярные коэффициенты поглощения ($\epsilon_{\text{отн}}$) по отношению площадей пиков гидразонов к площади пика диметилгидразона 2НБА при концентрации 1 мг/л (условия реакции см. гл. 3.7.). Максимумы поглощения гидразонов лежат в диапазоне 250-400 нм, что благоприятно с точки зрения чувствительности и селективности определения, поскольку большинство органических молекул поглощают при $\lambda < 240$ нм, и следует ожидать меньшего мешающего влияния компонентов матрицы реальных объектов.

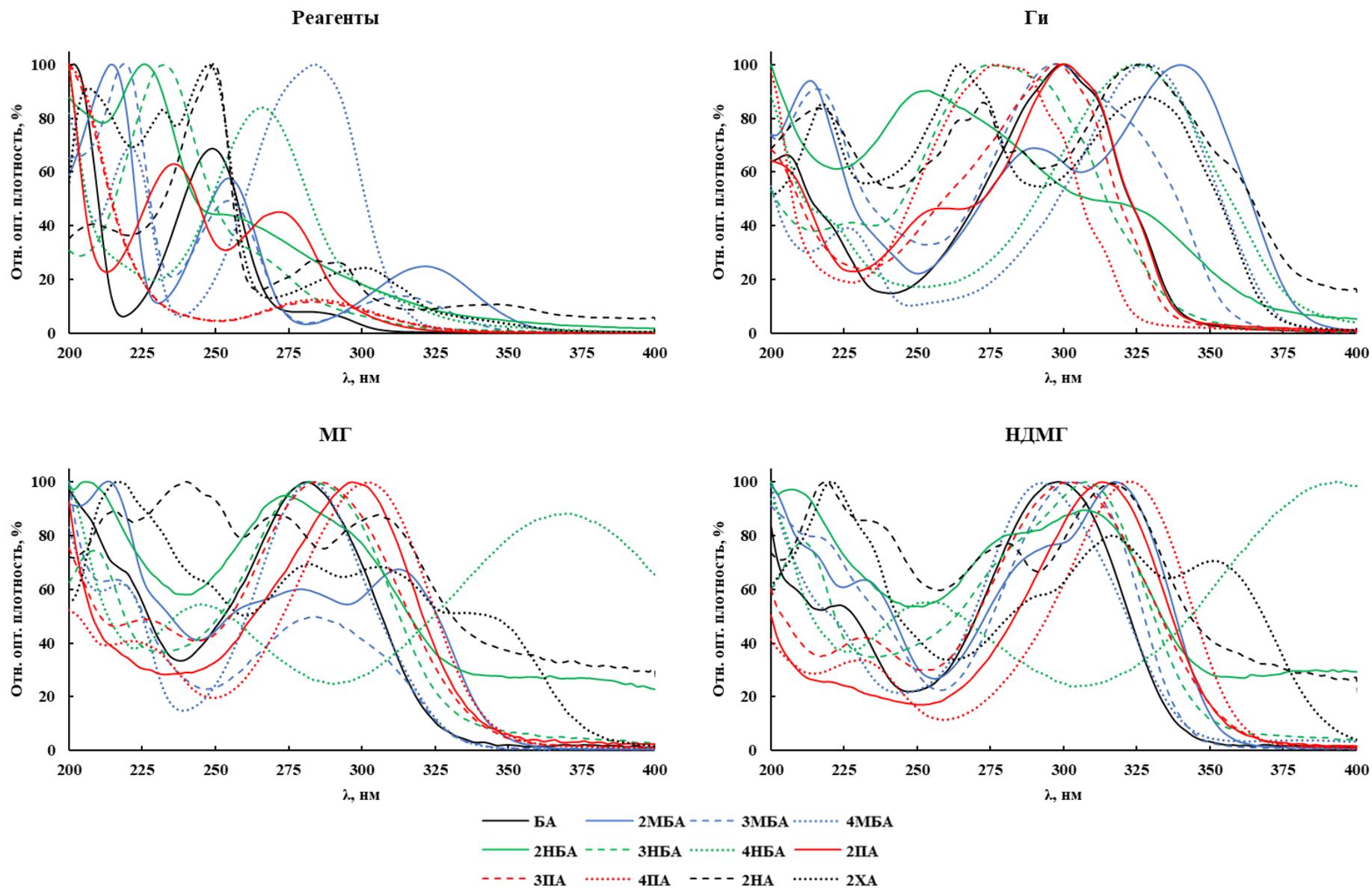


Рис. 2. Наложение нормированных экспериментальных электронных спектров поглощения исходных ароматических альдегидов и их гидразонов с Ги, МГ и НДМГ

Основные спектральные свойства гидразонов обусловлены наличием сопряжения неподеленной пары аминного атома азота и двойной связи азометиновой группы C=N, главным условием которого является планарность данного фрагмента, обеспечивающая эффективное перекрывание соответствующих n - и π -орбиталей. Наличие данного сопряжения проявляется в увеличении интенсивности и батохромном сдвиге характеристичной полосы поглощения ($\Delta\lambda$). При этом увеличение степени сопряжения и наличие дополнительных π - π или n - π взаимодействий в молекуле при условии сохранения планарности сопряжённой системы выражается в еще большем проявлении этих эффектов. Поэтому различия в спектральных свойствах будут определяться природой карбонильной и гидразиновой компонент гидразонов, а также их геометрическим строением [279].

Таблица 12. Экспериментальные значения длин волн максимумов и относительных молярных коэффициентов поглощения продуктов реакции Ги, МГ и НДМГ с ароматическими альдегидами

Реагент	λ_{\max} , нм				$\epsilon_{\text{отн}}$		
	Реагент	Ги	МГ	НДМГ	Ги	МГ	НДМГ
БА	250	300	282	298	5.1	1.5	1.4
2МБА	256	341	314	318	3.8	1.2	1.2
3МБА	258	294	284	303	4.5	1.6	1.4
4МБА	282	330	283	292	6.7	2.0	1.4
2НБА	229	253	274	307	3.7	1.4	1.0
3НБА	235	274	283	308	5.4	2.2	1.5
4НБА	268	325*	370	394	5.8	1.5	1.3
2ПА	268	300	297	313	3.8	1.7	1.6
3ПА	282	298	285	302	4.6	1.5	1.2
4ПА	282	276	304	322	4.2	2.5	1.9
2НА	286	326	294	316	7.8	2.8	2.1
2ХА	302	328	306	318	5.9	1.8	1.8

* образование соответствующего азина не было подтверждено методом ОФ ВЭЖХ-ЭРИ-МС

Длина волны поглощения гидразонов определяется величиной энергий π - π^* - или n - π^* -электронных переходов, соответствующие разнице энергий между низшей свободной и высшей занятой молекулярными орбиталями, которые в свою очередь зависят от большого числа факторов, таких как электронные эффекты функциональных групп, заряд молекул, природа растворителя, стерические и сольватационные эффекты и др. Ввиду сложности учета всех этих факторов крайне трудно точно спрогнозировать спектральные свойства для изомерных и тем более

для сильно различающихся соединений даже с привлечением сложных квантово-механических расчетов. Однако можно дать качественную оценку влияния природы и положения функциональных групп в карбонильных и гидразиновых компонентах на основе общих закономерностей в рамках рассмотрения электронных возмущений (мезомерные (М) и индуктивные (I) эффекты групп), резонансных структур и пространственных эффектов [290]. Особенно сложно интерпретировать электронные спектры поглощения производных Ги, поскольку для соответствующих азинов наблюдается значительные отклонения от планарности в результате пространственных затруднений существования плоских конформаций [279].

Данные спектров демонстрируют заметный батохромный сдвиг поглощения гидразонов по сравнению с исходными альдегидами, при этом средняя величина этого смещения увеличивается в ряду $\Delta\lambda_{cp}(MG) \leq \Delta\lambda_{cp}(Gi) < \Delta\lambda_{cp}(HDMG)$, а коэффициенты поглощения – в ряду $\epsilon_{omn}(HDMG) \leq \epsilon_{omn}(MG) \ll \epsilon_{omn}(Gi)$. Введение дополнительных CH_3 -групп нарушает планарность гидразонного фрагмента и уменьшает ϵ , при этом высокие значения $\epsilon_{om}(Gi)$ объясняются большим количеством кратных связей в молекулах азинов даже с учетом искажения их плоской структуры. Батохромный сдвиг при переходе от гидразонов МГ к НДМГ обусловлен усилением сопряжения в результате σ - π сопряжении π -электронов связи $C=N$ с неподеленной пары аминного азота более выраженного sp^3 -характера в результате искажения валентных углов [291]. Известно, что у тетразамещенных гидразонов из-за значительных стерических затруднений молекулы не планарны, в результате чего они характеризуются слабым поглощением, однако за счет сильного σ - π сопряжения имеют больший батохромный сдвиг чем их моно-, ди- и тризамещенные аналоги [292].

Для исследованных гидразонов в зависимости от природы карбонильного фрагмента коэффициенты поглощения (ϵ_{omn}) увеличивались следующим образом:

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

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

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

В то же время длины волн (λ_{max}) гидразонов в зависимости от природы карбонильного фрагмента 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

Как известно, донорные заместители проявляют +М и +I-эффекты, а акцепторные -М и -I-эффекты. Причем М-эффекты обычно значительно сильнее влияют на смещение энергетических уровней, чем I-эффекты, которые быстро затухают по цепочке атомов. Кроме того, заместители могут обладать одновременно как М-эффектом, так и I-эффектом, причем их знаки могут быть противоположными. Так, ОСН₃-группа при ароматическом кольце и гидразиновый фрагмент одновременно проявляют +М и -I-эффекты, а NO₂-группа при этом +М и +I-эффекты. Атом азота гетероциклических производных обладает слабым -I-эффектом. Это отражается на устойчивости соответствующих резонансных структур (схема 16).

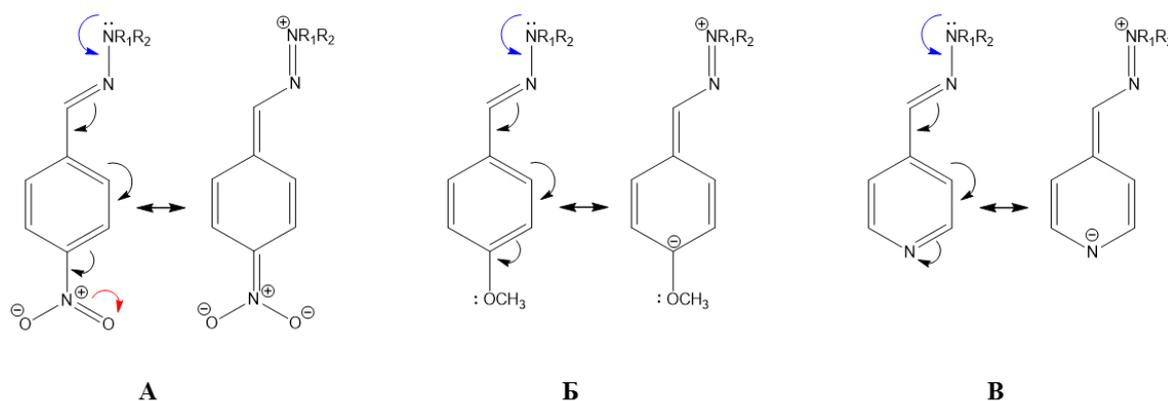


Схема 16. Резонансные структуры для 4НБА (А), 4МБА (Б) и 4ПА (В) гидразонов

Сильный батохромный сдвиг ($\Delta\lambda > 90$ нм) в случае 4НБА-производных МГ и НДМГ по сравнению с производными БА объясняется высокой устойчивостью соответствующих резонансных структур благодаря согласованности М-эффектов. Тем же можно объяснить введение гетероатома в структурах 2ПА и 4ПА производных ($\Delta\lambda > 20$ нм). Резонансные структуры для гидразонов 4МБА напротив дестабилизированы в результате несогласованности М-эффектов, что проявляется в слабом гипсохромном сдвиге для 4МБА-НДМГ ($\Delta\lambda < 5$ нм). Для 3НБА, 3МБА и 3ПА производных образование подобных резонансных структур невозможно, поэтому

они имеют примерно одинаковые и близкие к БА-производным максимумы поглощения в области 285 и 300 нм для МГ и НДМГ соответственно.

Более сложная ситуация с заместителями в вицинальном положении по отношению к гидразиновому фрагменту. Стерические препятствия результате взаимодействия соседних групп в случае 2НБА и 2МБА нарушают планарность, что выражается в искажении валентных углов и выведении заместителей из плоскости π -системы сопряжения. Это приводит к заметному снижению интенсивности поглощения для соответствующих производных гидразинов (см. табл. 12). В случае 2МБА производных искажение углов связей, вероятно, обеспечивает слабое σ - π сопряжение в гидразиновом фрагменте, ответственное за батохромный сдвиг ($\Delta\lambda \approx 15-40$ нм), а в гидразонах 2НБА это искажение еще сильнее, что приводит к гипсохромному сдвигу для Ги и МГ по сравнению с БА-производными ($\Delta\lambda \approx 10-50$ нм). Аналогичные закономерности наблюдали в спектрах замещенных анилинов с объемными заместителями в орто-положении [290].

Дополнительное сопряжение в структурах бициклических производных 2НА и 2ХА положительно сказывается на их интенсивности поглощения, а введение гетероатома вызывает дополнительный батохромный сдвиг в спектрах аналогично 2ПА. Из соображений чувствительности для СФ-детектирования рекомендуется применение именно бициклических реагентов, обеспечивающие высокие коэффициенты поглощения с максимумами в длинноволновой области УФ-спектра.

Обсужденные выше качественные предположения о роли соответствующих эффектов во взаимодействии полученных дериватов с электромагнитным излучением сходятся с предположениями авторов [279, 290] о влиянии природы заместителей при связи $C=N-N$ на спектральные свойства гидразонов.

В результате изучения электронных спектров поглощения 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 (табл. 9).

3.5. Водородный показатель (рН)

Ввиду того, что реакция гидразинов с карбонильными соединениями является реакцией конденсации, а ионы водорода в ней принимают крайне важное участие (см. гл. 3.1.), было изучено влияние рН реакционной среды в широком диапазоне значений 2-10 на скорость образования продуктов реакции и выход соответствующих дериватов. Реакции проводили в идентичных условиях при одинаковой концентрации гидразинов и избытка реагента. Проводили прямой ОФ ВЭЖХ-СФ анализ реакционных смесей, предварительно не выделяя продукты реакции, а с целью минимизации добавляемых объемов жидкостей в процессе дериватизации и разбавления пробы, нужного значения рН добивались добавлением соответствующего концентрированного буферного раствора с большой буферной емкостью (см. гл. 2.2.1.3.). Подобные буферные растворы являются весьма популярными (некаталитические) и ранее уже применялись для создания рН среды для дериватизации гидразинов (см. табл. 3, 4, 6, 7). Выход дериватов (ϕ) рассчитывали, как отношение площади пика гидразона или азина к соответствующей площади пика в конечных оптимальных условиях (см. гл. 3.7.). На рис. 3 представлены зависимости выходов продуктов дериватизации от рН реакционной среды с использованием некаталитических буферных растворов.

В представленных зависимостях четко выделяются два локальных максимума выхода гидразонов в диапазонах рН 4-7 и 9-10. Причиной этого, по всей видимости, является то, что в диапазоне рН 7-9 происходит смена механизма общего кислотного катализа на основной (см. гл. 3.1.).

Активность гидразинов в реакции с ароматическими альдегидами при использовании некаталитических буферных растворов снижается в ряду Ги>МГ>НДМГ с уменьшением их pK_{a1} (см. табл. 1). В среднем максимумы выхода для Ги соответствуют области рН 5-6, а для МГ и НДМГ смещены к рН 6-7, что, вероятно, связано, с большей основностью Ги. В случае использования гетероциклических реагентов наблюдались низкие выходы гидразонов при рН<5, что связано с их протонированием в этой области рН.

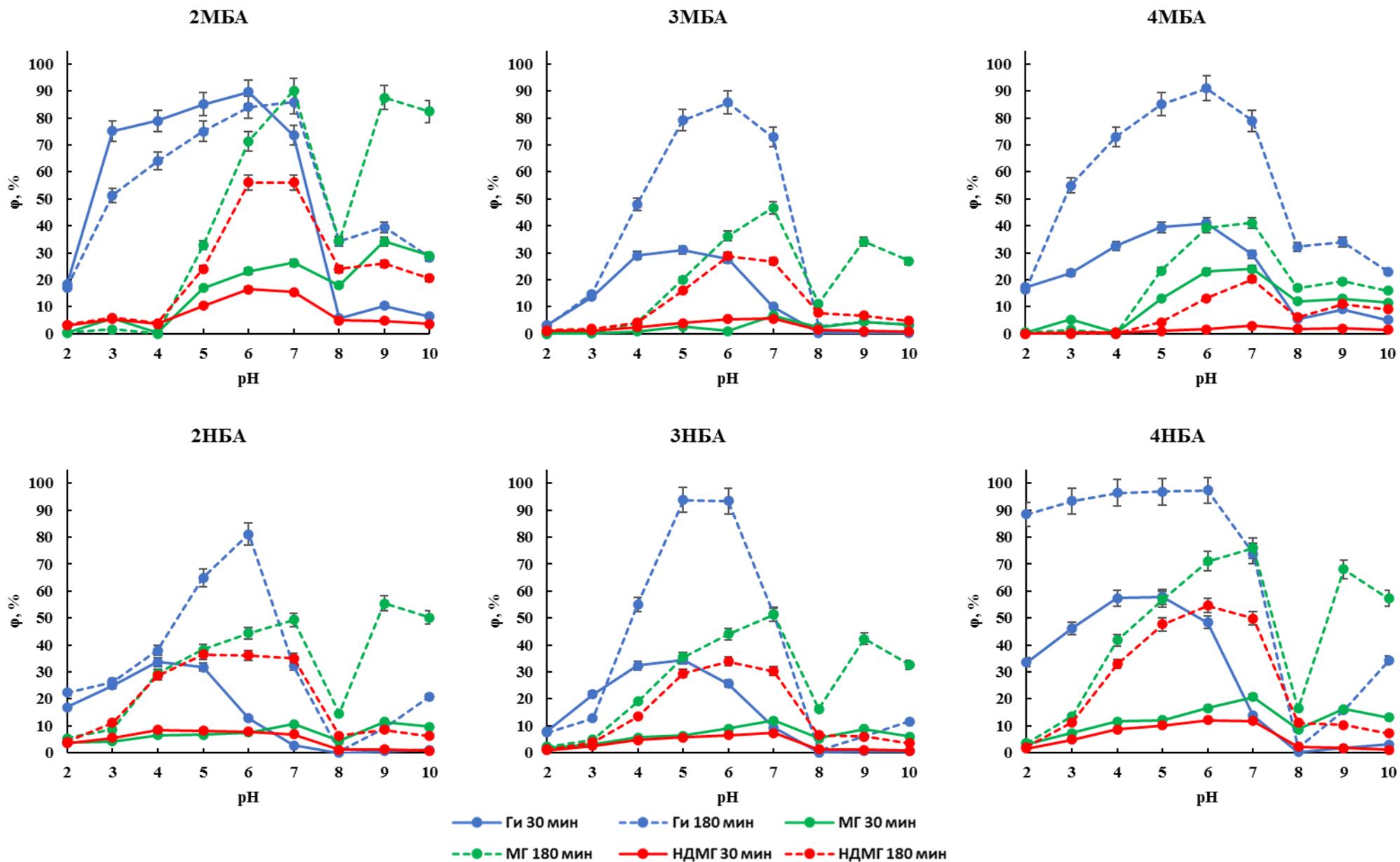


Рис. 3. Зависимости выхода гидразонов Ги, МГ и НДМГ с ароматическими альдегидами (φ) от pH реакционной среды с использованием некаталитических буферных растворов за время реакции – 30 и 180 мин ($n = 3$, $P = 0.95$)

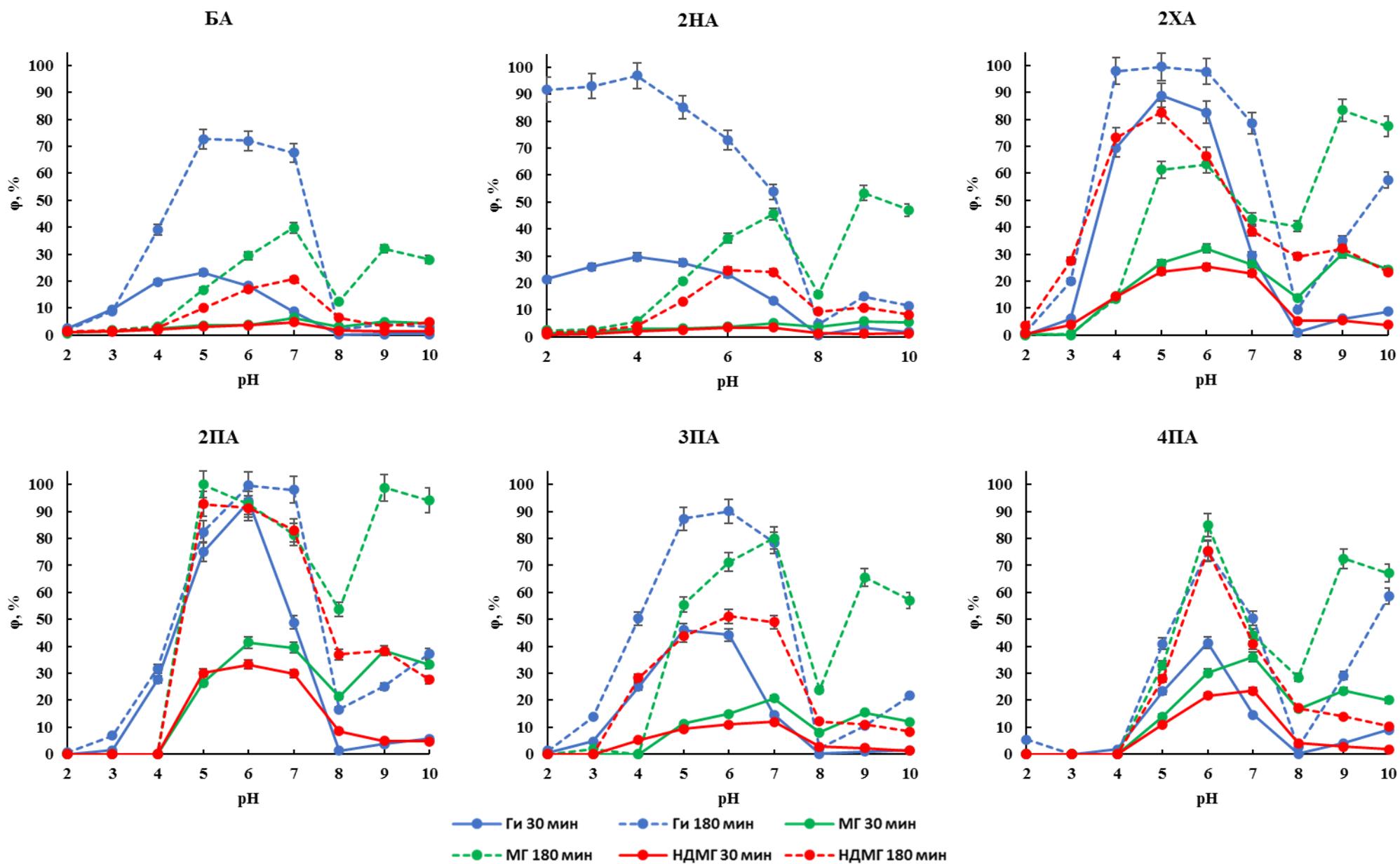


Рис. 3 (продолжение). Зависимости выхода гидразонов Ги, МГ и НДМГ с ароматическими альдегидами (φ) от pH реакционной среды с использованием некаталитических буферных растворов за время реакции – 30 и 180 мин ($n = 3, P = 0.95$)

Особо стоит отметить значительное ускорение реакций в 2-5 раз в случае использования 2МБА и 2ПА по сравнению с их изомерными аналогами с другим положением функциональной группы. Причина данного явления заключается во внутримолекулярном автокатализе дегидратации промежуточных гидразинокрбинолов (схема 17). Карбоксильные -COOH и фенольные OH-группы в вицинальном положении также ускоряют данную реакцию, причем эти группы могут располагаться как в гидразиновом, так и карбонильном компонентах гидразона [293].

Однако при всем этом, скорости образования конечных продуктов невысоки, и даже за 3 ч проведения реакции не достигаются количественные выходы производных. Особенно остро эта проблема стоит для менее активных АГ, что делает невозможным в этих условиях практическое применение данных реагентов в качестве групповых для определения гидразинов.

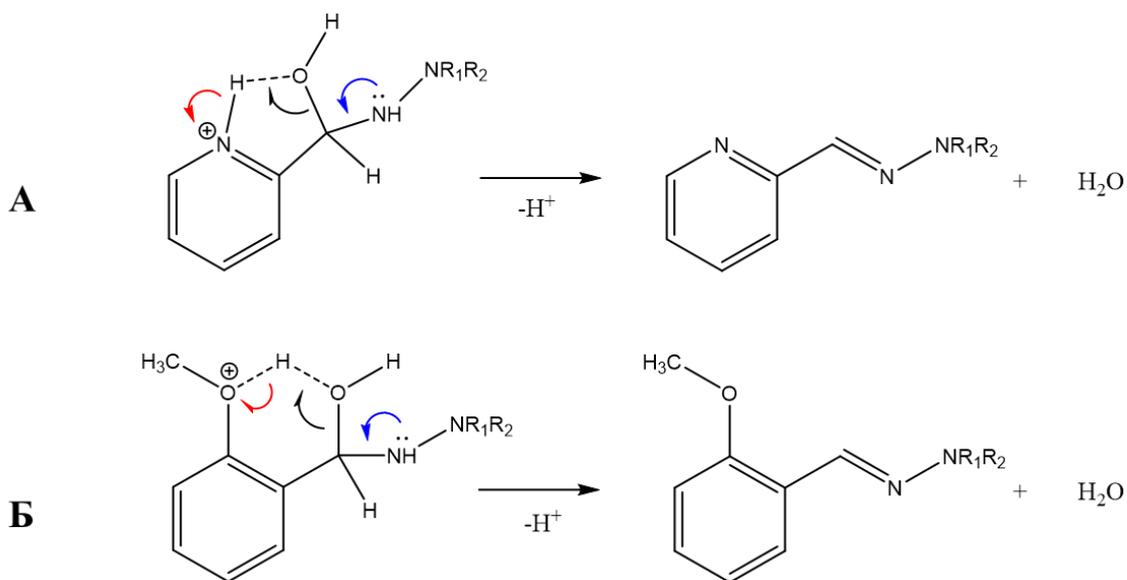


Схема 17. Механизм автокатализа дегидратации гидразинокрбинолов 2ПА (А) и 2МБА (Б)

Известно, что скорость образования гидразонов увеличивается в присутствии соединений, содержащих первичные или вторичные аминогруппы, в результате эффекта иминного катализа [294]. Суть его заключается в образовании имина (основания Шиффа) из амина и альдегида как промежуточного соединения, скорость реакции гидразинов с которым выше, чем с исходным карбонильным соединением (схема 18). При этом лимитирующей является первая стадия, поскольку константа скорости образования имина (k_1) значительно меньше стадии переаминирования

гидразином (k_2). Благодаря этому общая скорость образования гидразона перестает зависеть от концентрации и природы исходного гидразина, что очень важно при работе с малыми концентрациями [295].

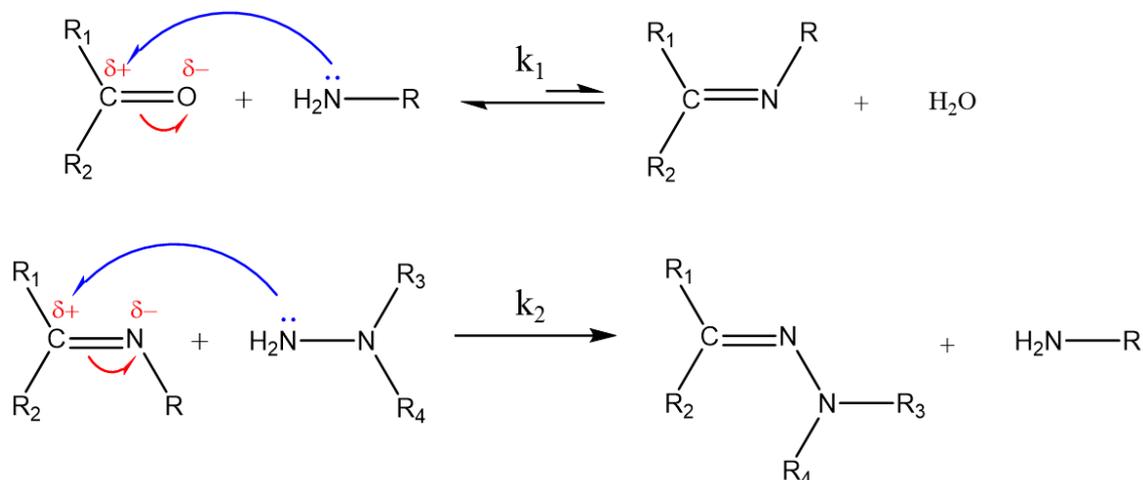


Схема 18. Механизм иминного катализа

Наиболее популярными иминными катализаторами являются анилин [295, 296] и его производные [297], но известно и о применении алифатических соединений с аминогруппой [294]. С целью уменьшения продолжительности реакции в данной работе опробовали буферные растворы на основе потенциальных иминных катализаторов, таких как аммиак (аммоний), МА, ДМА, Трис и глицин, о применении последнего для получения БА-производного метоксиамина уже сообщалось в работе [295]. Преимуществом этих катализаторов, по сравнению ароматическими аминами, является их высокая растворимость в водных средах, возможность приготовления на их основе готовых буферных растворов, их доступность и меньшая токсичность. Выбор лучшего катализатора проводили на примере реакции Ги, МГ и НДМГ с БА. Для этого использовали буферные растворы на основе вышеперечисленных катализаторов с pH 5.0–11.5 и концентрацией 3.3 М. Концентрация гидразинов в реакционной смеси была по 1 мг/л, катализатора и БА составляла 0.56 М и 0.8 мМ соответственно. На рис. 4 представлены зависимости выхода БА-производных Ги, МГ и НДМГ от pH с использованием катализаторов за время реакции 5 мин при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).

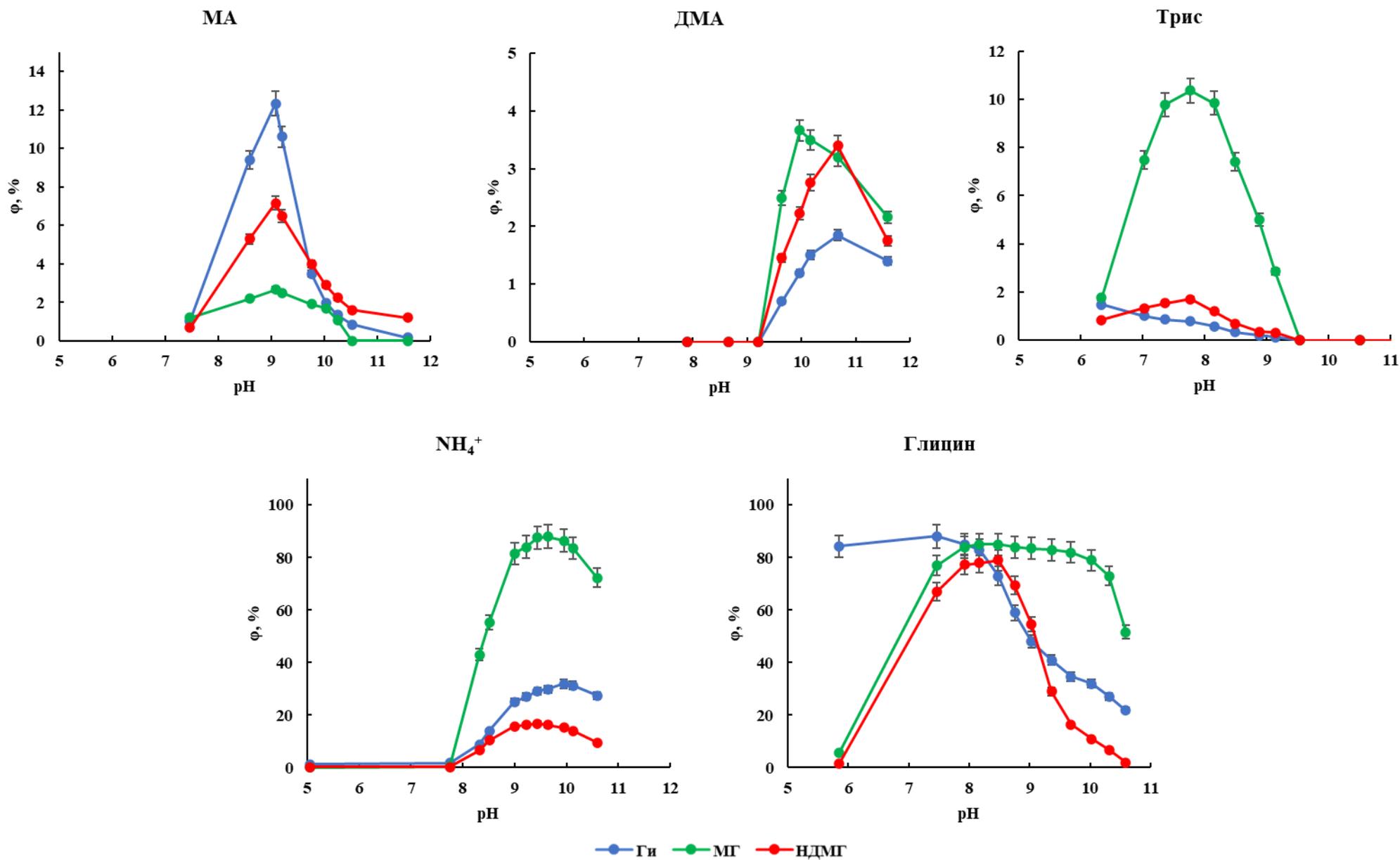


Рис. 4. Зависимость выхода БА-производных Ги, МГ и НДМГ (ϕ) от pH реакционной среды с использованием каталитических буферных растворов. Время реакции – 5 мин ($n = 3$, $P = 0.95$)

При проведении реакции течение 5 мин при рН 5–7 без катализа средние выходы БА-производных для Ги, МГ и НДМГ составляют примерно 2.0, 0.6 и 0.4% соответственно. Из представленных зависимостей видно, что эффект иминного катализа проявляется для всех аминсоединений, а максимумы выхода дериватов находятся в слабощелочной области рН 7.5-10.5 близких к значениям их рКа, которые увеличиваются в ряду Трис<NH₄⁺<Глицин<МА<ДМА [298]. При этом существенно ускоряются реакции с участием АГ.

Применение ДМА оказало слабый каталитический эффект, вероятно, вследствие его меньшей нуклеофильности и скорости образования промежуточного имина. В то же время применение буферных систем на основе МА ускоряет реакции образования БА-производных гидразинов в 5–10 раз. Присутствие Трис оказывало значимый эффект только для МГ, что, по все видимости, связано с меньшими стерическими затруднениями для нуклеофильной атаки МГ соответствующего имина. NH₄⁺-катализ значительно ускорил образование БА-производных Ги, МГ и НДМГ примерно в 15, 150 и 40 раз соответственно.

Для ГБР в области рН 8-8.5 наблюдается φ≈75-85% для всех рассматриваемых гидразинов всего за 5 мин реакции, природа которых, в отличие от применения других катализаторов, значительно меньше влияет скорость реакции. Поэтому в дальнейших исследованиях использовали ГБР с рН 8.5.

3.6. Концентрация буферного раствора

Поскольку скорость образования гидразинов зависит от концентраций всех участвующих в этом процессе веществ, изучали зависимости выхода гидразинов от концентрации ГБР. На рис. 5 представлены зависимости выхода БА-гидразинов от концентрации катализатора в конечной реакционной смеси (с учетом разбавления пробы). При концентрации ГБР меньше 0.16 М эффект иминного катализа не наблюдался. Выход зависимостей на плато обусловлен тем, что при больших концентрациях глицина скорость первой стадии образования основания Шиффа перестает зависеть от концентрации иминного катализатора. Поскольку при концентрации глицина 0.56 М достигаются максимумы выхода гидразинов и выше нее значимо не меняются, то для проведения одновременной дериватизации в их

совместном присутствии была выбрана такая добавка ГБР, которая обеспечивает эту концентрацию катализатора в реакционной смеси.

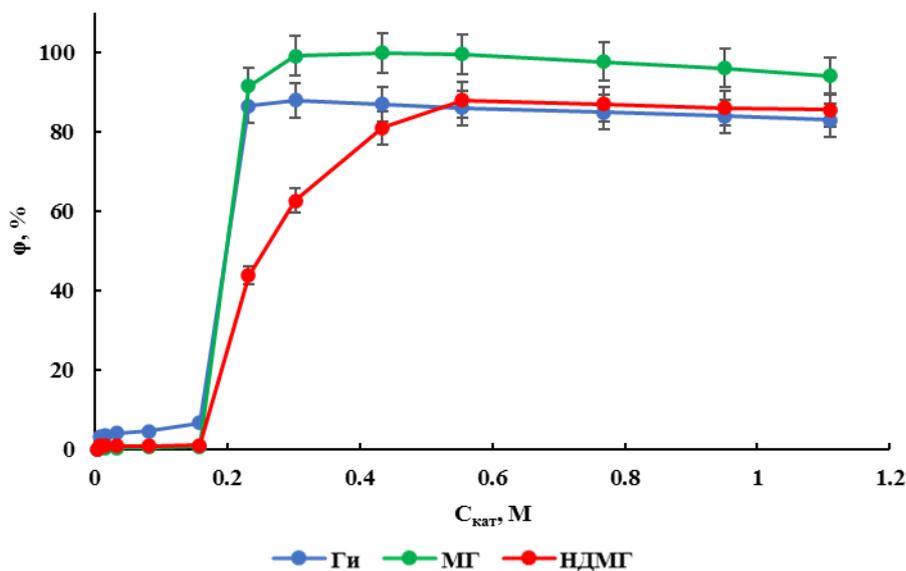


Рис. 5. Зависимости выхода БА-гидразонов (φ) от концентрации иминого катализатора ($C_{\text{кат}}$) в реакционной смеси. Время реакции – 5 мин ($n = 3$, $P = 0.95$)

3.7. Концентрация реагента

Ввиду обратимости реакции образования гидразонов для достижения высоких выходов необходим значительный избыток дериватизирующего агента. Исследовано влияние концентрации 12-ти дериватизирующих реагентов в диапазоне 0.2–14 мМ в реакционной смеси на выходы продуктов дериватизации гидразинов. На рис. 6 представлены соответствующие зависимости, полученные при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) за 10 мин проведения реакции.

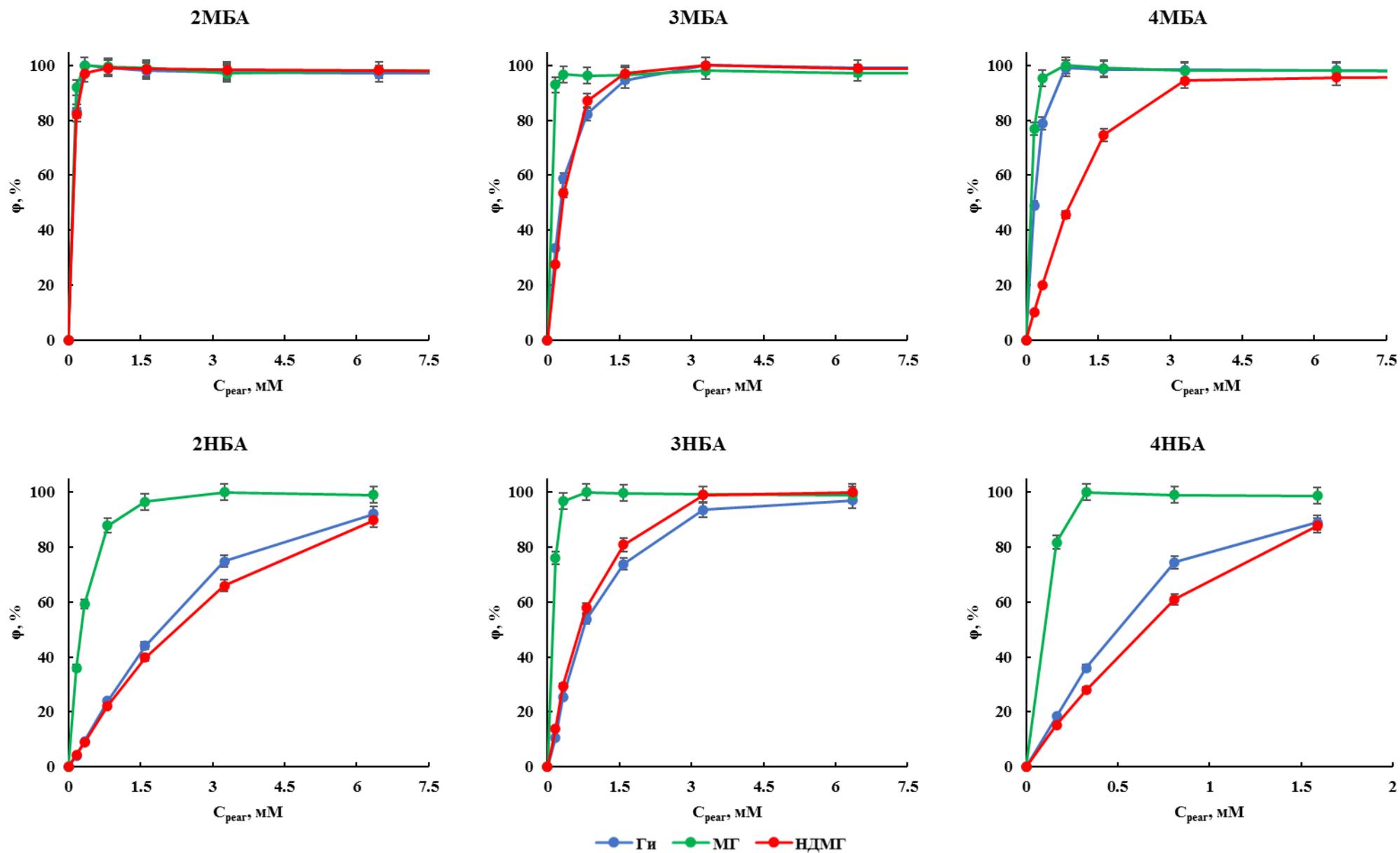


Рис. 6. Зависимость выхода гидразонов Ги, МГ и НДМГ с ароматическими альдегидами (φ) от концентрации дериватирующего реагента $C_{\text{реаг}}$. Время реакции – 10 мин ($n = 3, P = 0.95$).

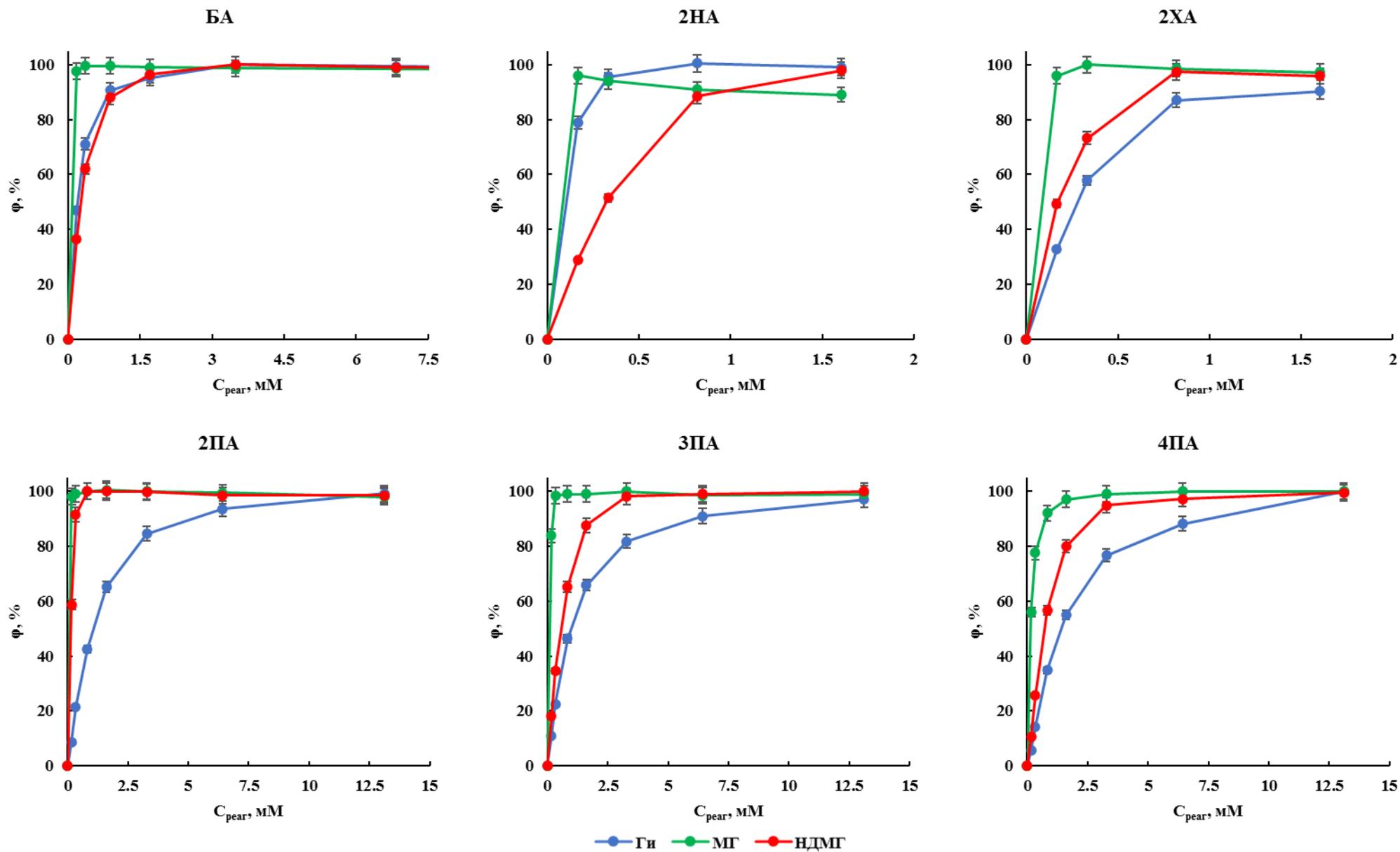


Рис. 6 (продолжение). Зависимость выхода гидразонов Ги, МГ и НДМГ с ароматическими альдегидами (ϕ) от концентрации дериватирующего реагента (C_{pear}). Время реакции – 10 мин ($n = 3$, $P = 0.95$)

Для изучения влияния положения и природы функциональных групп в составе карбонильной компоненты на скорость реакции провели сравнение выходов соответствующих гидразонов (рис. 7). В выбранных условиях МГ проявляется большую реакционную способность, поэтому природа реагента слабо влияет на скорость образования его производных. Вероятно, это связано с меньшими пространственными препятствиями для нуклеофильной атаки промежуточного основания Шиффа по сравнению с НДМГ и гидразонами Ги, являющимися более слабыми нуклеофилами для атаки второй молекулы альдегида, в отличие от исходного Ги. Вид зависимостей качественно объясняется из тех же соображений об электронных и стерических эффектах заместителей при C=N-N связи, что были рассмотрены выше (см. гл. 3.3.).

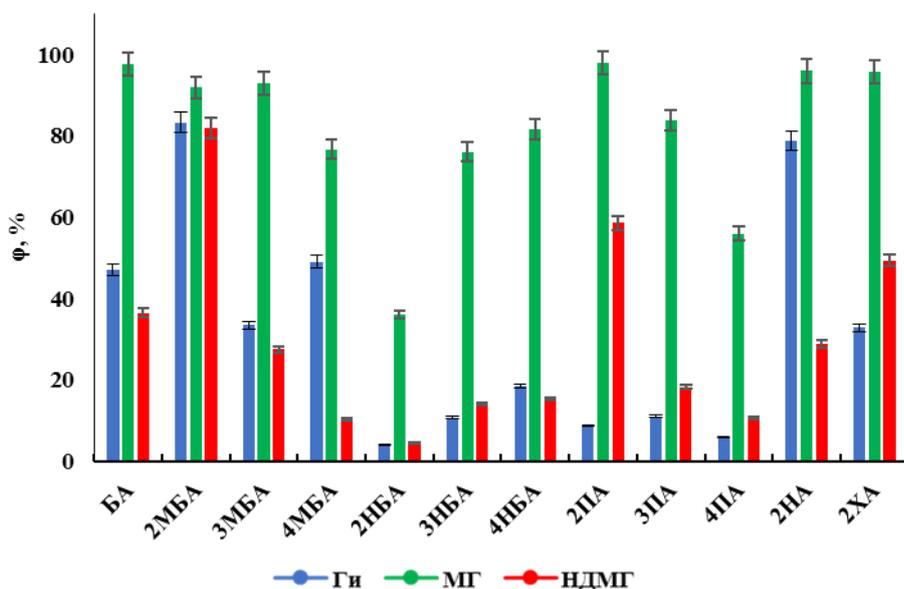


Рис. 7. Выход реакции образования гидразонов Ги, МГ и НДМГ с ароматическими альдегидами (ϕ) при $C_{кат} = 0.56$ М, $C_{реак} = 0.2$ мМ и времени реакции – 10 мин

Зависимость скорости (r) образования гидразонов от природы реагента выглядит следующим образом:

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

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

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

Как видно, в среднем скорости выхода гидразонов для метоксиальдегидов выше, чем для их нитропроизводных, хотя без катализа наблюдалась обратная тенденция (рис. 3), что, вероятно, связано с ускорением образования соответствующих оснований Шиффа, стабилизированных донорным заместителем.

Для 2МБА и 2ПА наблюдается заметное ускорение в результате внутримолекулярного автокатализа (см. гл. 3.4.). Для Ги взаимодействие идет сразу по двум аминогруппам и по мере удаления функциональной группы от реакционного центра значительно увеличивается скорость реакции, поэтому в данном случае определяющими, по всей видимости, являются стерические факторы. При этом Ги проявляет заметную меньшую активность по отношению к гетероциклическим реагентам в этих условиях. Исходя из этих закономерностей, для дериватизации гидразинов в условиях иминного катализа предпочтительнее использовать реагенты с донорными заместителями, обеспечивающие автокатализ.

Для дальнейших исследований выбирали такую концентрацию каждого реагента, при которой достигается максимальный выход одновременно для всех гидразинов. Используемые в последующих экспериментах концентрации ароматических альдегидов представлены в табл. 13.

3.8. Температура реакции

Температура – один из самых важных параметров любого физико-химического процесса. Равновесие реакции дериватизации достигается быстрее при более высоких температурах, однако образующиеся гидразоны могут разлагаться в этих условиях [284]. Кроме того гидразины и их производные являются восстановителями, и в присутствии кислорода и ионов металлов активно протекает их окислительная трансформация [52, 299]. В данной работе было установлено, что даже в модельных растворах и без доступа света содержание некоторых гидразонов значительно уменьшалось в течение нескольких часов, что является существенным препятствием при хранении таких проб или проведении рутинных анализов, в том числе с применением оборудования, позволяющего осуществлять автоматическую инъекцию проб. Для предотвращения протекания таких нежелательных процессов использовали АК и ДТТ в качестве консервантов, а также ЭДТА. Присутствие АК или ЭДТА в широком диапазоне концентраций не имело положительного эффекта. Добавки же 3 мМ ДТТ, соответствующей примерно 10-кратной растворимости кислорода в воде при 20°C, было достаточно для того, чтобы повысить стабильность гидразонов этих условиях. Так, концентрация БА-Ги без ДТТ за 2 ч уменьшалась почти на 25%, но с добавкой 3 мМ ДТТ ее уменьшение через 24 ч составило не более 5%, а через 48 ч – не более 10%. Дополнительным преимуществом применения ДТТ

является то, что он обладает высокой растворимостью и сильными восстановительными свойствами, является хелатообразующим реагентом, не взаимодействует с участниками реакции и не изменяет pH реакционной смеси (схема 19) [300].

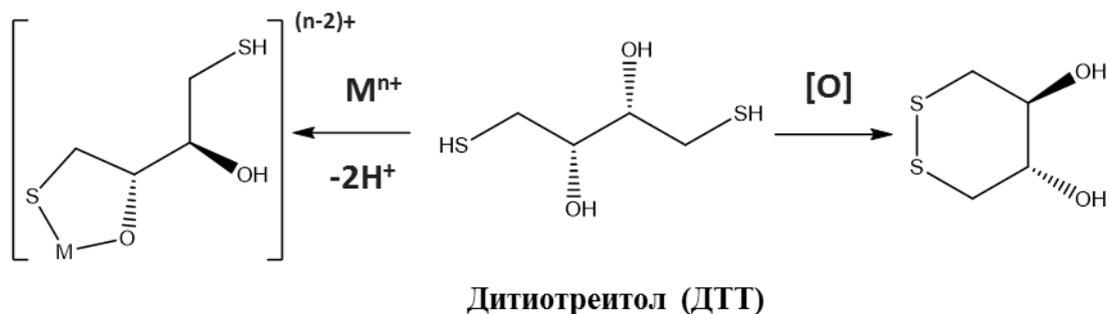


Схема 19. Взаимодействие ДТТ с окислителями ([O]) и образование хелатных комплексов с ионами металлов (M^{n+}) [300]

Для изучения влияния температуры на выходы продуктов дериватизации 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 (рис. 8, рис. П2).

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, таких как 2НА-МГ, значимое уменьшение концентрации наблюдалось при комнатной температуре даже в присутствии ДТТ.

Многие исследователи использовали нагревание (до 100°C) реакционных смесей без иминного катализа, с целью добиться более высоких выходов гидразонов, а также сократить время реакции (см. гл. 1.2). На рис. 9 приведены зависимости выхода БА-производных гидразинов при 80°C от времени для ГБР и наиболее часто используемых некаталитических буферных растворов диапазона pH $5-7$ в аналогичных условиях. Для некаталитических сред количественный выход дериватов не достигается ($\varphi < 60\%$), а с увеличением времени нагрева также значительно снижается.

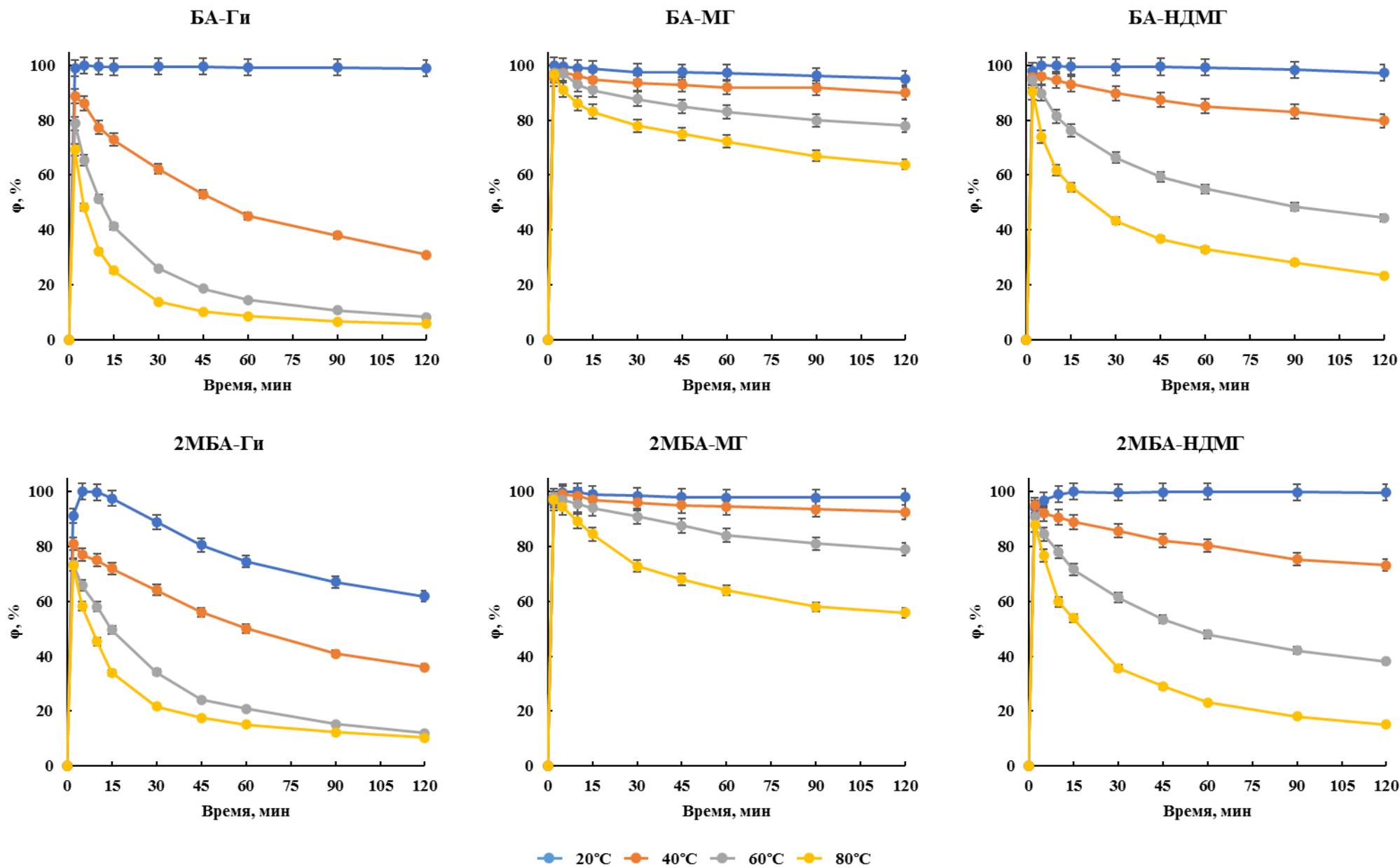


Рис. 8. Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (φ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)

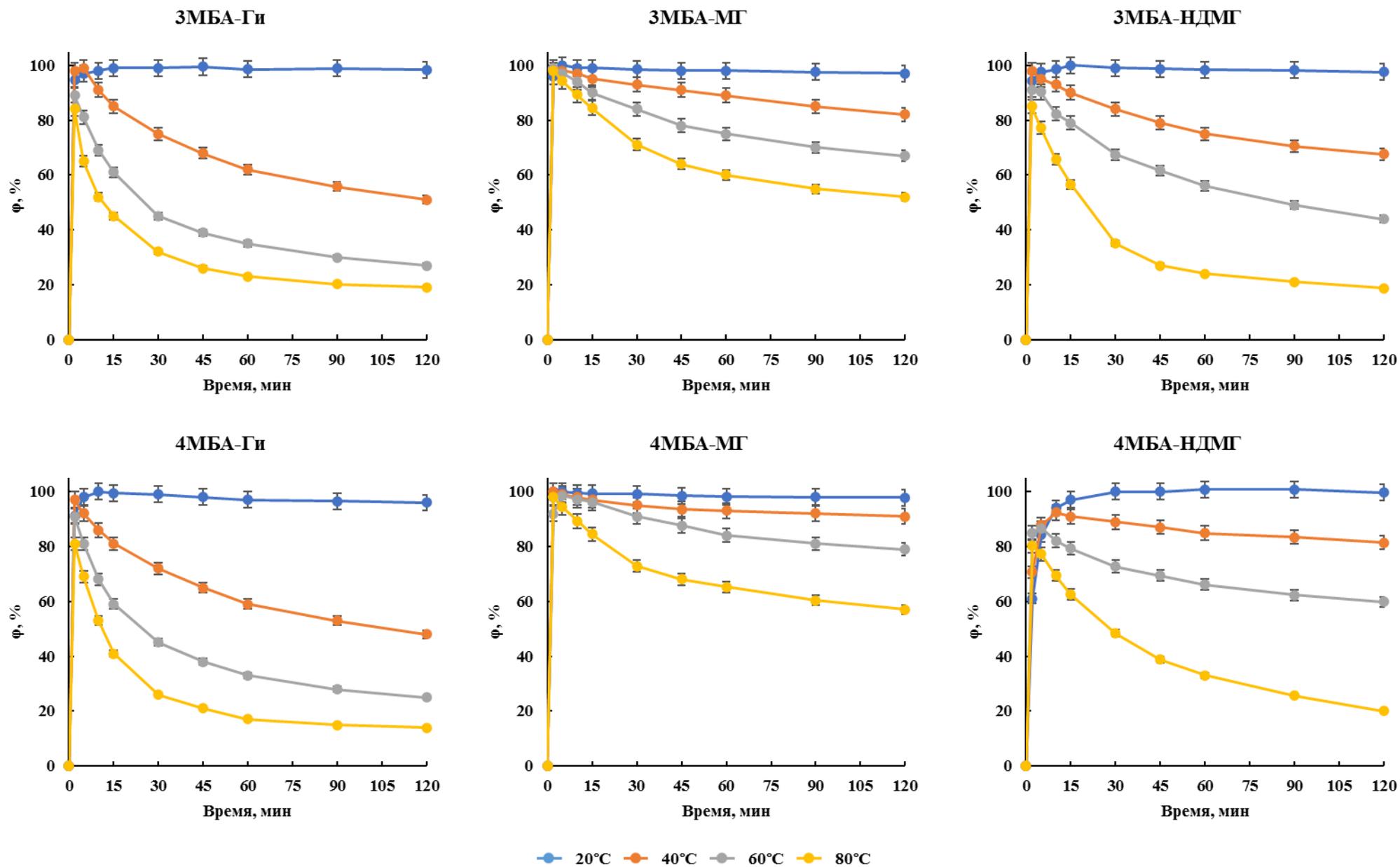


Рис. 8 (продолжение). Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (φ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)

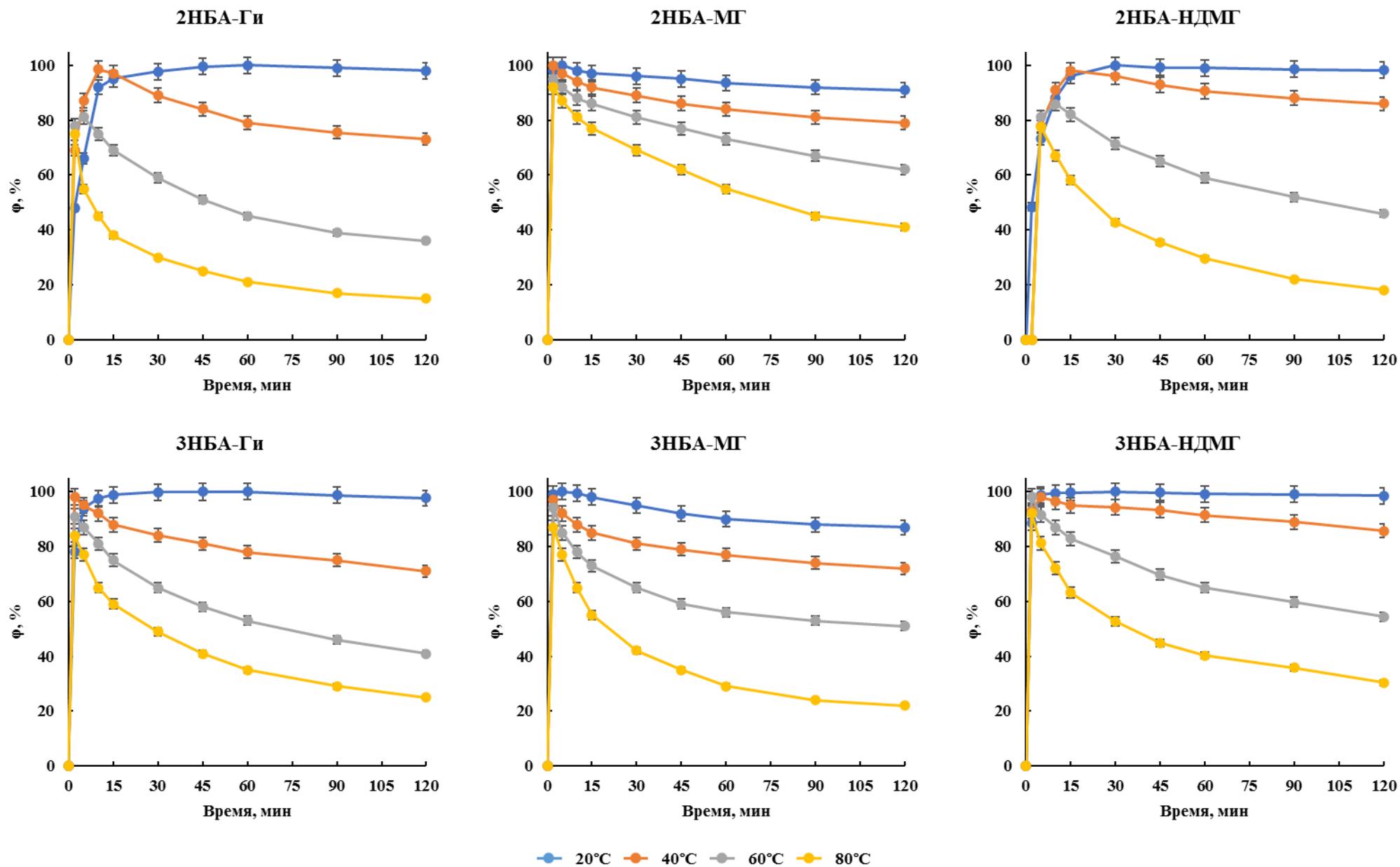


Рис. 8 (продолжение). Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (φ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)

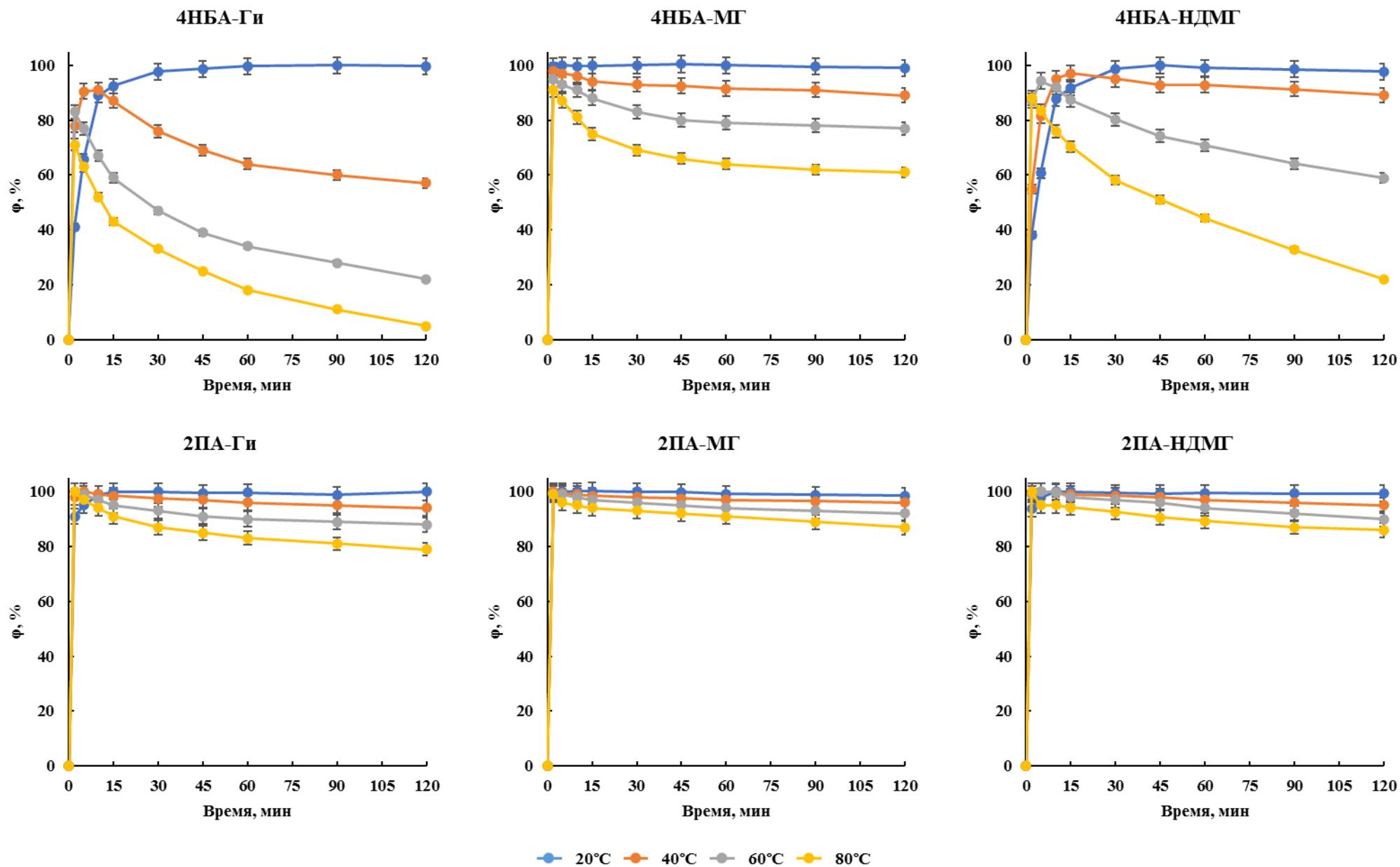


Рис. 8 (продолжение). Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (φ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)

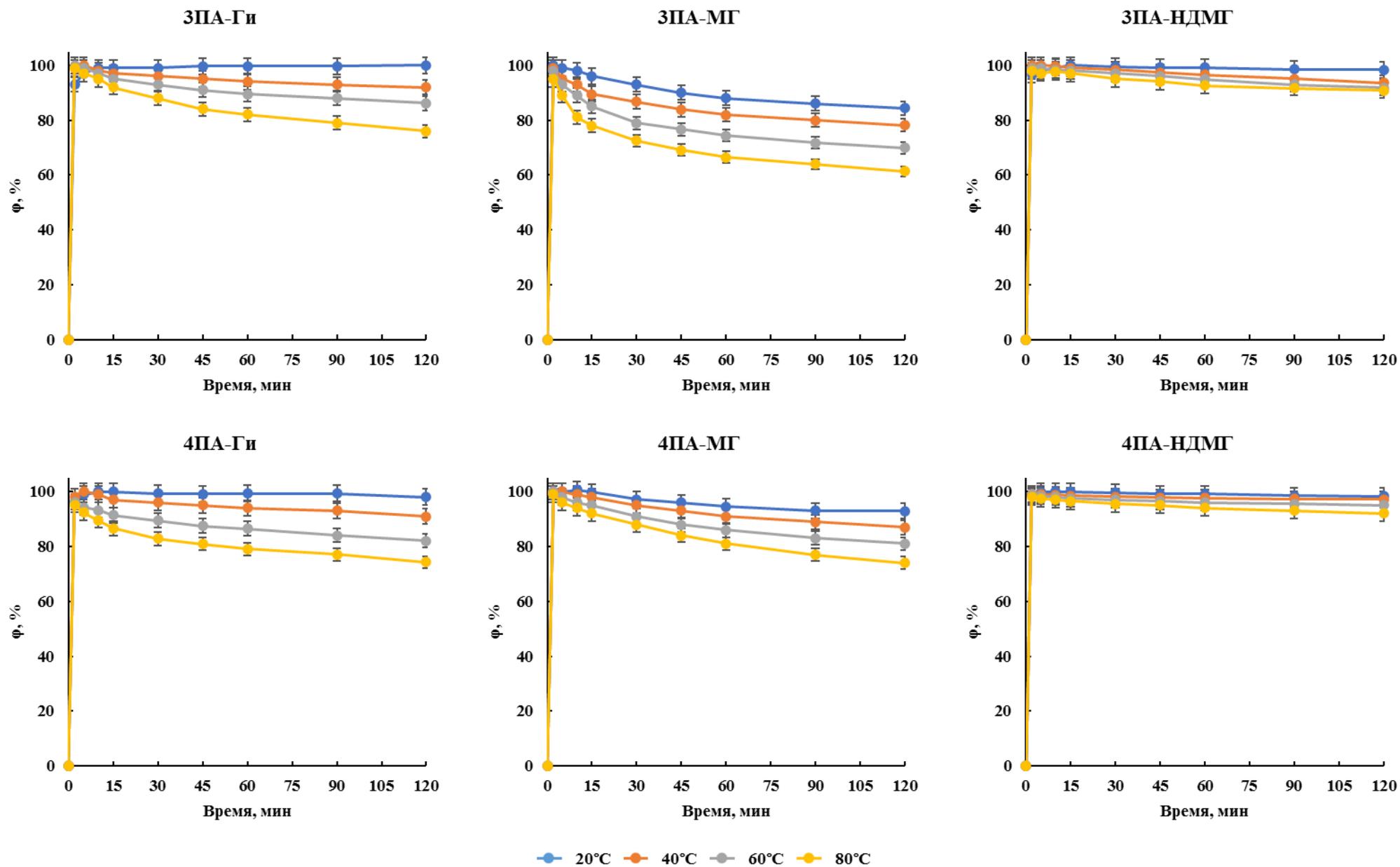


Рис. 8 (продолжение). Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (φ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)

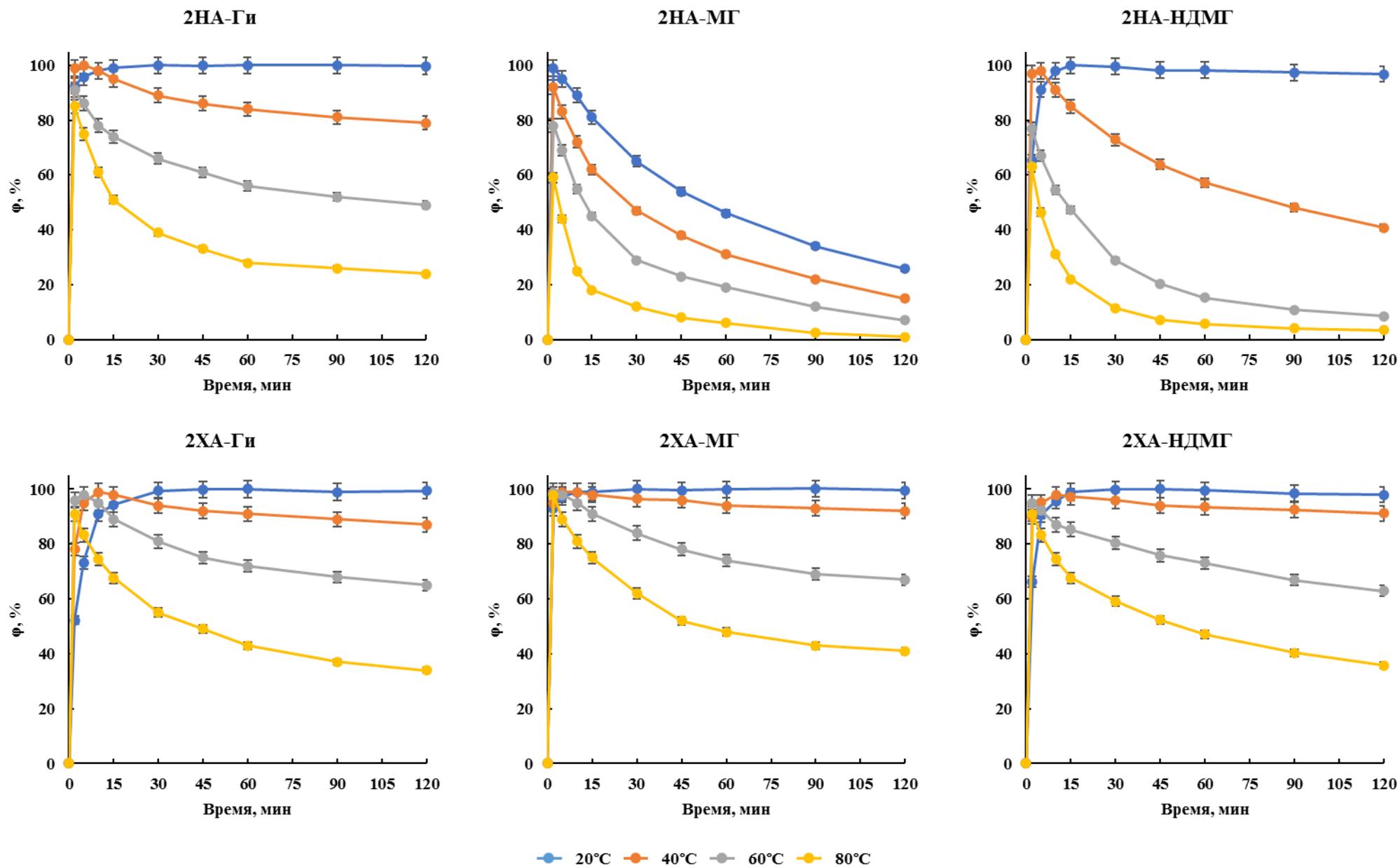


Рис. 8 (продолжение). Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (ϕ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)

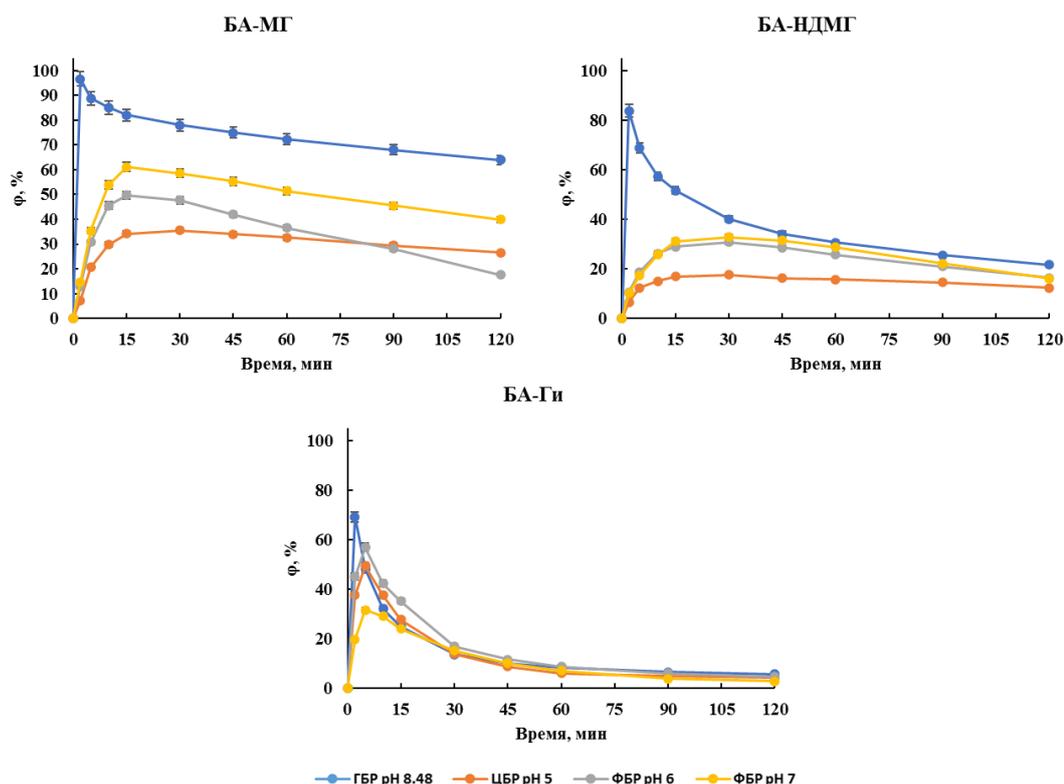


Рис. 9. Зависимости выхода БА-производных Ги, МГ и НДМГ (ϕ) при 80°C от времени реакции для ГБР и некаталитических буферных растворов с рН 5-7 ($n = 3$, $P = 0.95$)

Эти 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 кривой на «плато» (выход деривата >99%), было выбрано в качестве времени конца реакции (табл. 13).

Таблица 13. Выбранные условия проведения дериватизации гидразинов с ароматическими альдегидами

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
3ПА	13.1	10
2НА	1.6	30
2ХА	1.6	30

рН 8.5, $C(\text{ГБР}) = 0.56 \text{ М}$, $C(\text{ДТТ}) = 3 \text{ мМ}$, температура реакции – комнатная ($20 \pm 2^\circ\text{C}$)

3.9. Оценка полноты протекания реакций дериватизации

Для подтверждения количественного протекания реакции в выбранных условиях проводили ИХ анализ реакционной смеси. Пределы обнаружения Ги, МГ и НДМГ по измененной методике [221] составили 1, 2.5 и 5 мкг/л соответственно. Хроматограммы анализа стандартного раствора гидразинов (по 50 мкг/л), холостой пробы с добавлением БА и реакционной смеси Ги, МГ и НДМГ (по 1 мг/л) с БА, полученные в оптимальных условиях (табл. 13), представлены на рис. 10.

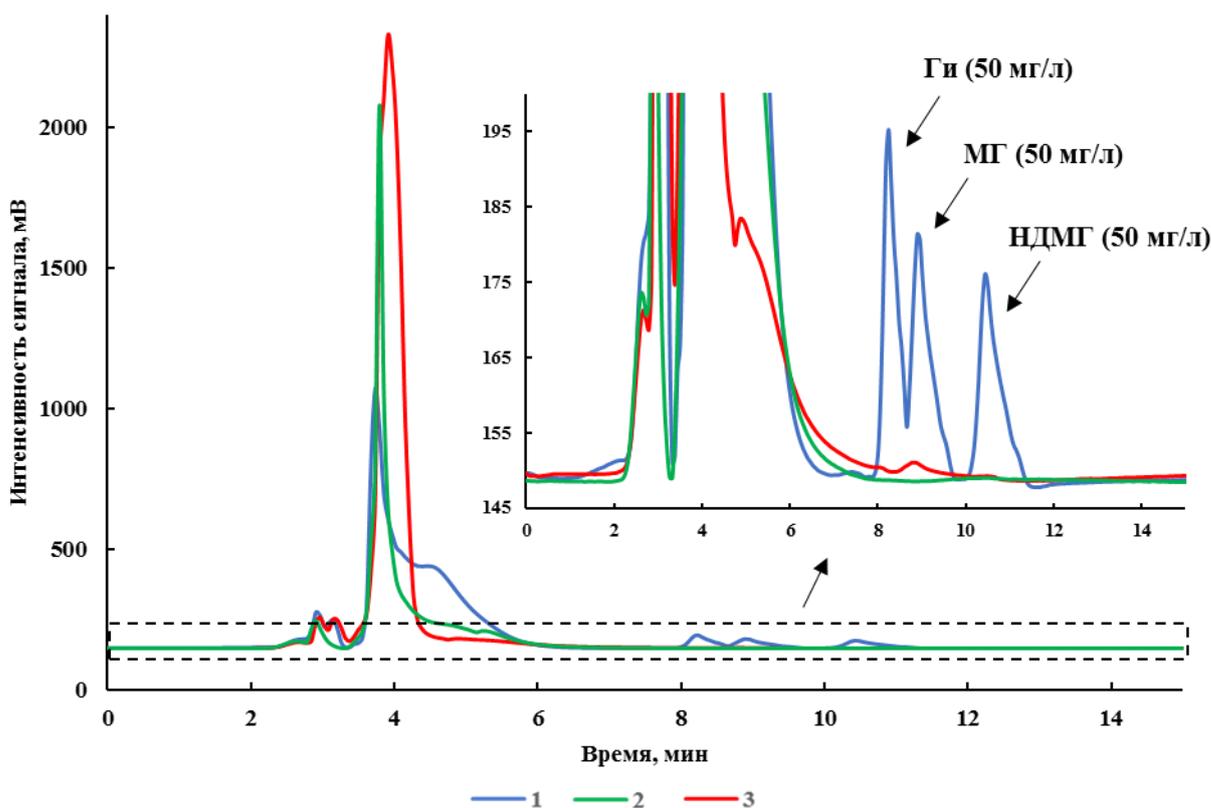


Рис. 10. Наложение экспериментальных хроматограмм стандартного раствора гидразинов (по 50 мкг/л) (1), холостой пробы с добавлением БА (2) и реакционной смеси Ги, МГ и НДМГ (по 1000 мкг/л) (3) с БА. Условия ИХ ВЭЖХ-АД см. гл. 2.2.3.2.

Концентрация свободных форм гидразинов оказалась ниже предела обнаружения, что говорит о том, что в выбранных условиях реакция протекает количественно для каждого аналита (выход продукта >99%).

3.10. Влияние рН подвижной фазы на устойчивость дериватов в условиях ОФ ВЭЖХ анализа

Поскольку реакция образования гидразонов полностью обратима, возможен их гидролиз в условиях ОФ ВЭЖХ анализа, который может ускоряться в присутствии кислот в подвижной фазе [287, 288]. Поэтому на примере негетероциклических (БА) и гетероциклических (2ПА) производных Ги, МГ и НДМГ было изучено влияние рН подвижной фазы в диапазоне 3-9 на стабильность их площадей пиков (рис. 11). Наблюдали слабое удерживание, искажение формы (хвостование), уширение и уменьшение площади пика 2ПА-производных в слабокислой области рН. По всей видимости, это связано с протонированием пиридинового кольца и меньшей устойчивостью производных в этой области рН (см. гл. 3.4). В диапазоне рН 7-9 площади и форма пиков гидразонов 2ПА значительно не меняются. В случае БА-производных параметры пиков оставались постоянными во всем исследованном диапазоне рН. Таким образом, было показано, что кислотность подвижной фазы влияет только на стабильность и удерживание гетероциклических производных при рН подвижной фазы менее 7.

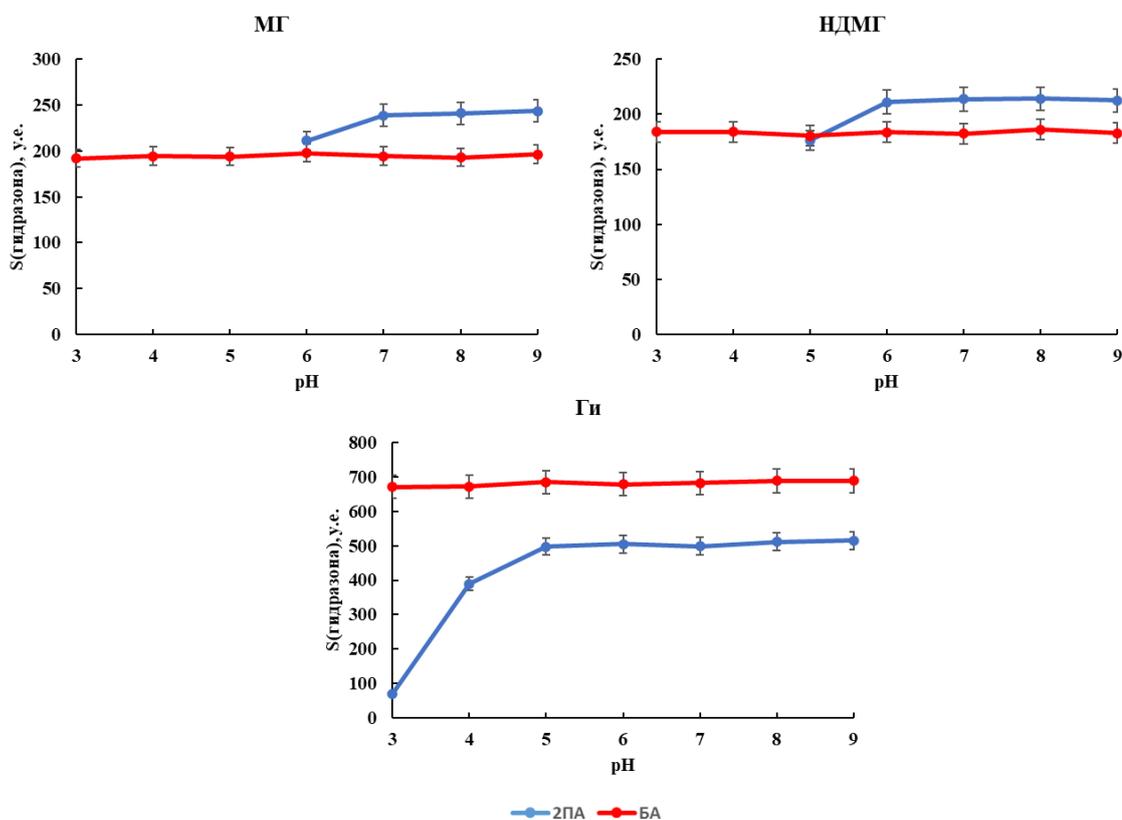


Рис. 11. Зависимость площадей пиков гидразонов Ги, МГ и НДМГ с 2ПА и БА (S) от рН подвижной фазы. Концентрации гидразинов – по 100 мкг/л.

ГЛАВА 4. ВЫБОР УСЛОВИЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ

Величина аналитического сигнала в условиях ЭРИ-МС зависит от многих параметров, таких как ПД, температура источника ионов, потоки газов, состав и поток подвижной фазы и т.д., а в условиях МС/МС от выбора пары иона-предшественника – иона-продукта и ЭС. В данной работе изучали влияние ПД и pH подвижной фазы на величину аналитического сигнала производных гидразинов в режиме регистрации положительно заряженных ионов. Для выбора характеристичных ММР-переходов получали и изучали масс-спектры ионов-продуктов. Выбор параметров детектирования проводили методом однофакторной оптимизации, при этом значения других параметров использовали рекомендованные производителем масс-спектрометрического оборудования.

4.1. Потенциал декластеризации

Продукты дериватизации гидразинов с выбранными ароматическими альдегидами не имеют в своем составе групп, способных обеспечить образование отрицательно заряженных ионов в условиях ЭРИ. Однако, благодаря неподделенной паре атомов азота гидразонного фрагмента, они могут ионизироваться с образованием положительно заряженных аддуктов. Выбор иона-предшественника осуществляли, изучая масс-спектры, полученные в режиме SCAN в диапазоне m/z 70-700 при ПД 20 В. Выбранные m/z для детектирования соответствовали монопротонированным молекулярным аддуктам $M+1$ (табл. 10). В случае 4НБА образование соответствующего азина не было подтверждено. По всей видимости, вместо присоединения второй молекулы 4НБА к гидразону протекает побочный процесс, приводящий к продукту, который слабо ионизируется в условиях ЭРИ в режиме регистрации положительных ионов.

Для выбора оптимального ПД получали зависимости нормированных площадей пиков соответствующих гидразонов по иону-предшественнику от приложенного ПД в диапазоне 10-100 В (рис. 12). Значения ПД, соответствующие максимумам таких зависимостей, были выбраны как оптимальные, при этом если максимум наблюдали между парой соседних значений ПД, то оптимальное значение выбирали как среднее (табл. 10).

Для оценки влияния природы применяемого реагента на эффективность ионизации гидразонов провели сравнение площадей их пиков, полученных в аналогичных условиях по иону-предшественнику при оптимальном ПД (рис. 13).

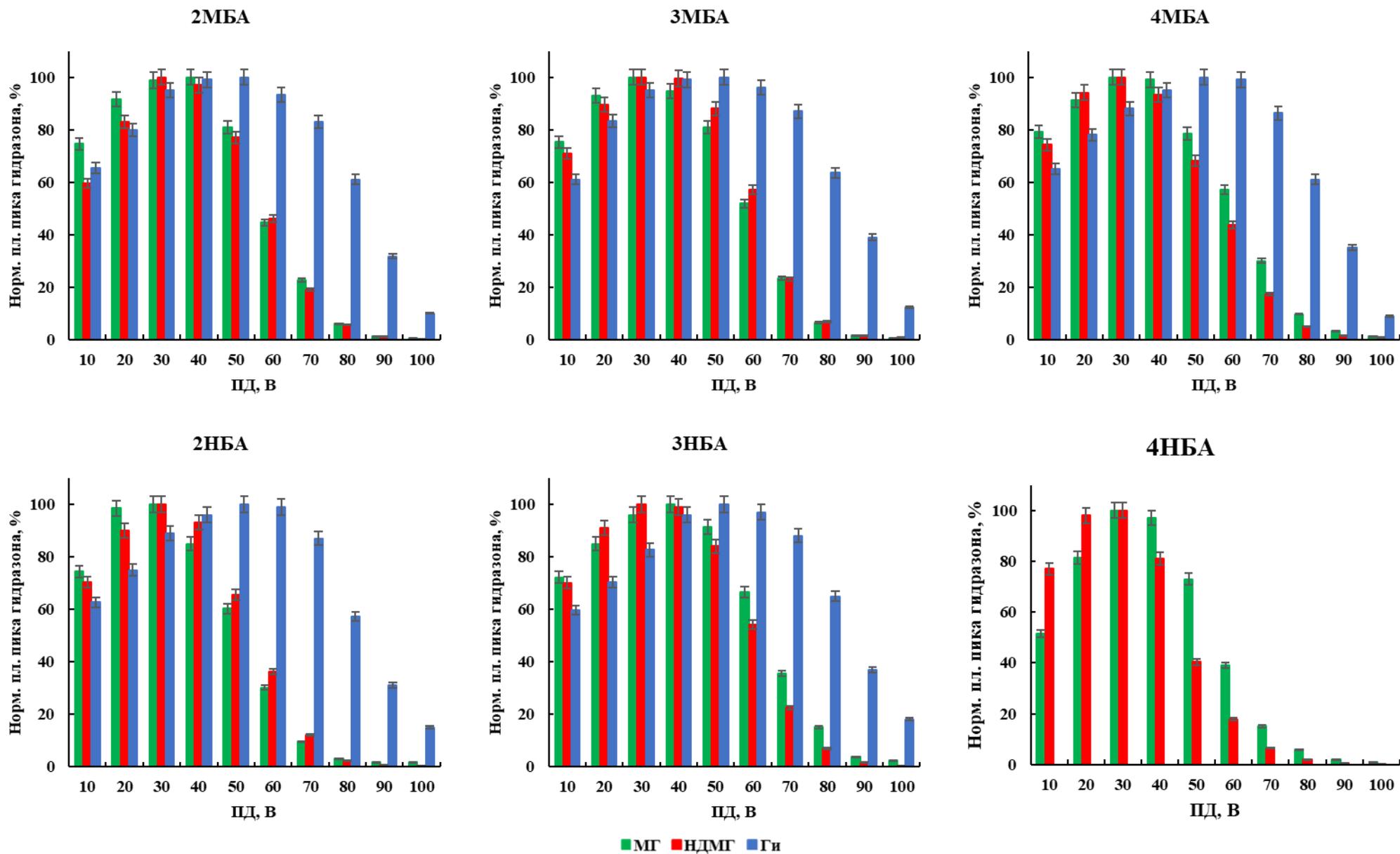


Рис. 12. Зависимость нормированных площадей пиков гидразонов от приложенного ПД в режиме выделенных ионов (n = 3, P = 0.95)

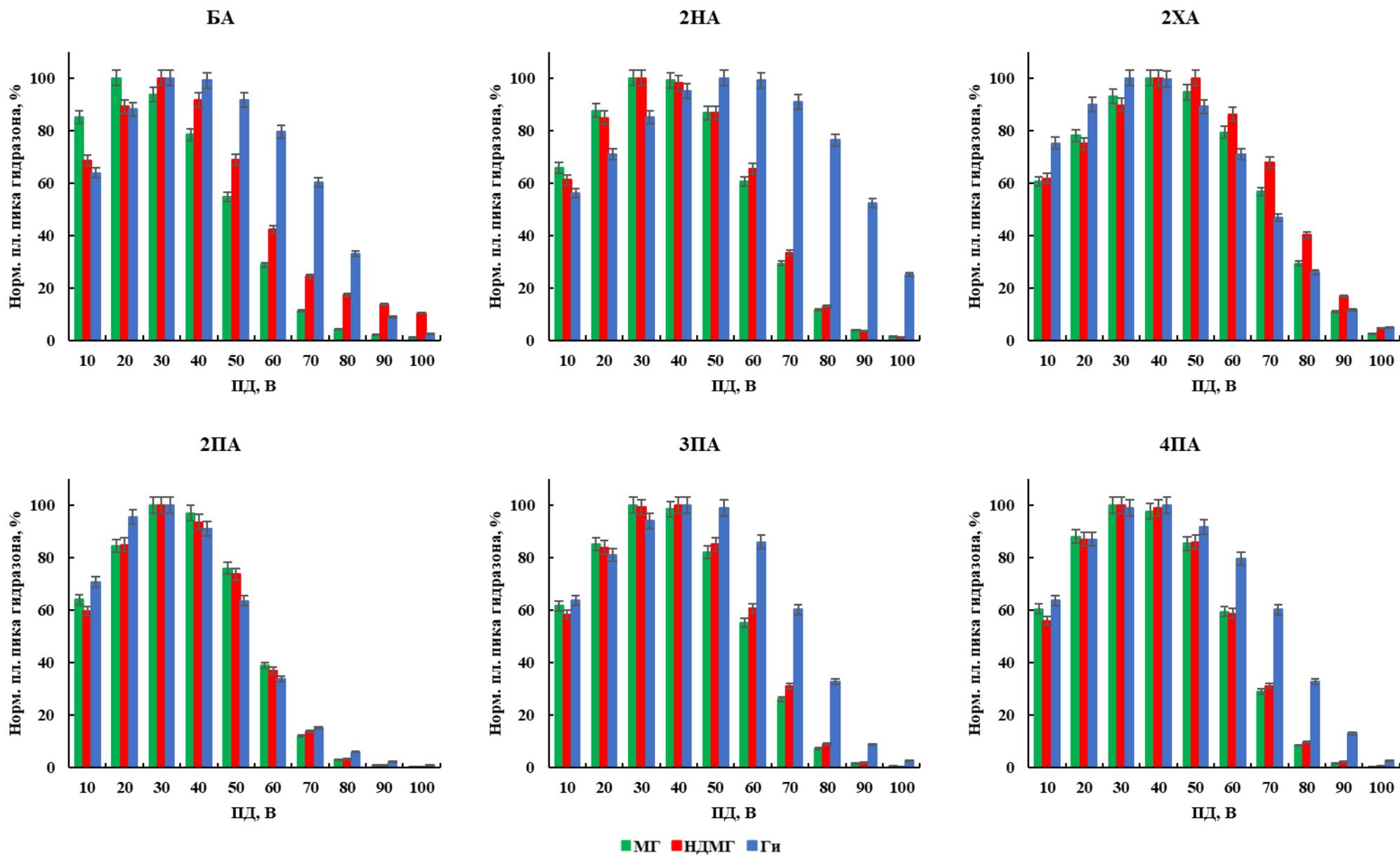


Рис. 12. (продолжение). Зависимость нормированных площадей пиков гидразонов от приложенного ПД в режиме выделенных ионов ($n = 3, P = 0.95$)

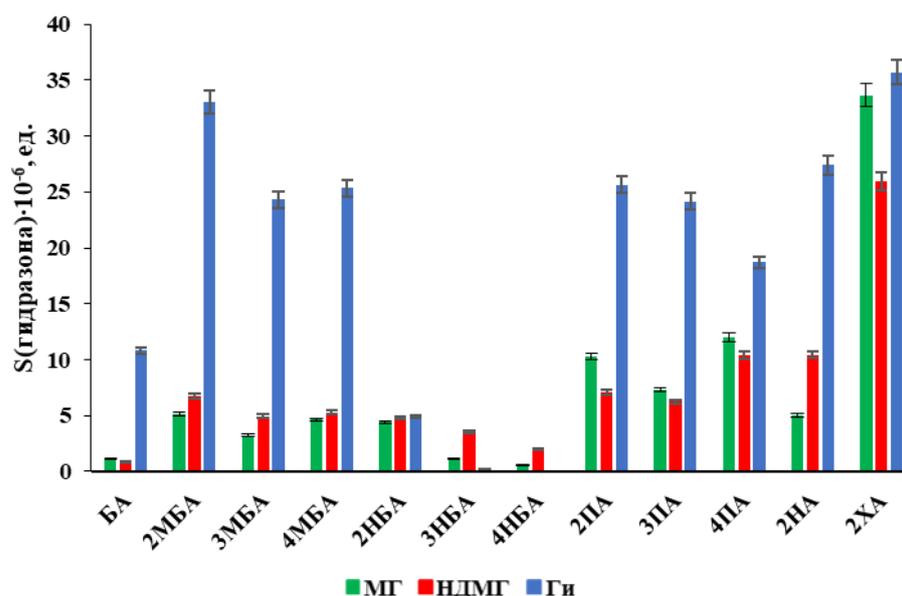


Рис. 13. Зависимости площадей пиков гидразонов в режиме выделенных ионов от применяемого ароматического альдегида. Концентрации гидразонов – 100 мкг/л (n = 3, P = 0.95)

Из представленной зависимости можно видеть, что наличие акцепторных заместителей значительно снижает эффективность ионизации, которая уменьшается в ряду 2НБА>3НБА>4НБА по мере усиления сопряжения и стягивания электронной плотности с аминного атома азота гидразинового фрагмента по причине -М-эффекта NO₂-групп. Наличие донорных CH₃O-групп, напротив, способствует ионизации, которая увеличивается в ряду 3МБА<4МБА<2МБА. Максимальный +М-эффект CH₃O-групп реализуется в 4МБА производных, что увеличивает электронную плотность на аминном азоте, делая его более основным. Аномальное увеличение эффективности ионизации в случае 2МБА, по всей видимости, связано со стабилизацией протонированной формы, благодаря реализации трехкоординационной водородной связи с участием атомов азота азометиновой группы C=N и кислорода CH₃O-группы в орто-положении. Введение в ароматическую систему атома азота, способного к дополнительному протонированию, в зависимости от природы карбонильной и гидразиновой компонент, увеличивает эффективность ионизации до 15 раз по сравнению с негетероциклическими аналогами. По мере удаления атома азота, обладающего -I-эффектом, от гидразинового фрагмента наблюдается увеличение эффективности ионизации, которое в случае 2ПА-производных АГ, также может быть обусловлено образованием трехкоординационной водородной связи (схема 20).

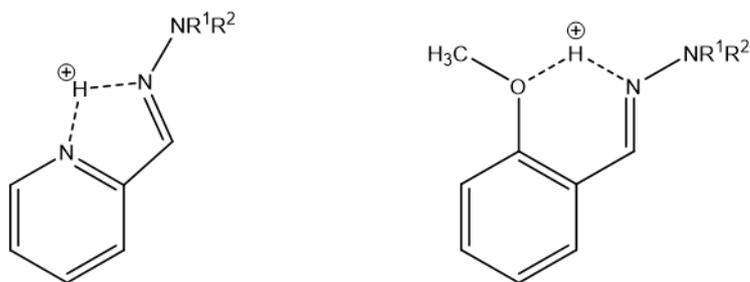


Схема 20. Возможный механизм стабилизации молекулярных ионов (M+1) для 2ПА и 2МБА гидразонов

В целом, наблюдается общая закономерность увеличения ионизации с ростом m/z , поэтому азины, как правило, лучше ионизируются, чем соответствующие алкилгидразоны в аналогичных условиях [277].

4.2. Водородный показатель (pH) подвижной фазы

Значение pH подвижной фазы может сильно влиять на эффективность ионизации в условиях ИЭР. Для оценки влияния pH подвижной фазы в диапазоне 3-9 на эффективность ионизации гидразонов на примере производных БА, 2НА, 2ПА и 2ХА провели сравнение площадей их пиков, полученных в режиме SIM по иону-предшественнику (рис. 14).

Вид, представленных зависимостей обусловлен одновременной реализацией двух противоположных эффектов. Характер зависимостей для гетероциклических производных при $pH < 7$ объясняется теми же закономерностями, которые были уже рассмотрены выше (см. гл. 3.10.). При этом их негетероциклические аналоги показали ожидаемое увеличение эффективности ионизации с увеличением кислотности подвижной фазы в области pH 3-5. Наблюдали повышение эффективности ионизации гидразонов при увеличении pH от 7 до 9, вероятно, связанное со значительным увеличением доли непротонированного аммиака (NH_3) в подвижной фазе на основе соли аммония ($pK_a(NH_4^+) = 9.25$ при $25^\circ C$ [298]). В этих условиях переносу протона в жидкой фазе заряженных капель способствует постепенное испарение аммиака ввиду его высокой летучести [301]. Все исследованные производные демонстрируют лучшую эффективность ионизации при pH 9 подвижной фазы, поэтому все последующие этапы работы проводили с использованием подвижных фаз с этим pH.

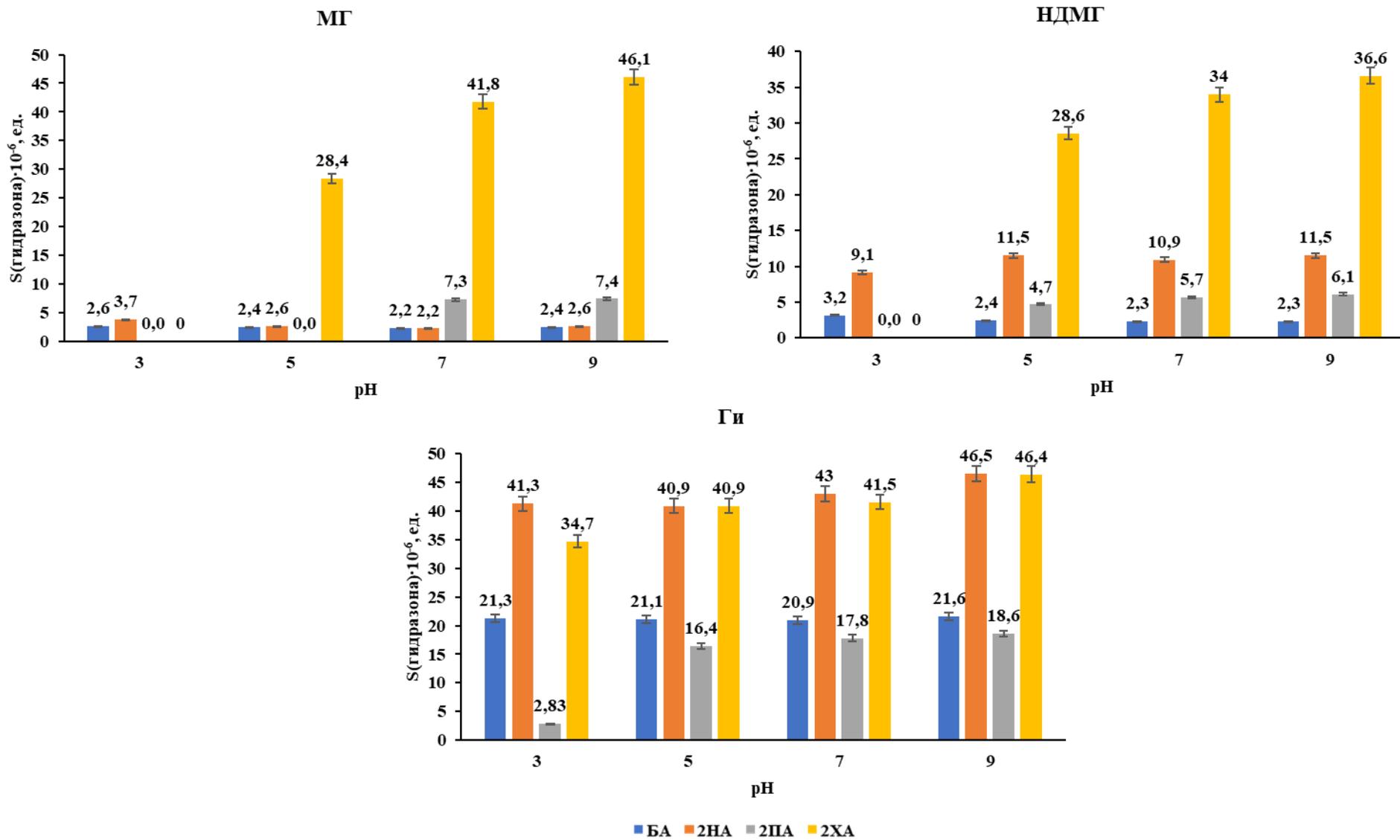


Рис. 14. Зависимость площадей пиков гидразонов БА, 2НА, 2ПА и 2XA от pH подвижной фазы. Концентрации гидразонов – 100 мкг/л (n = 3, P = 0.95)

Результаты, представленные в гл. 4.1.-4.2., демонстрируют преимущество использования ароматических реагентов с вицинальными донорными заместителями или ионогенными группами для повышения чувствительности за счет повышения эффективности ионизации в условиях ОФ ВЭЖХ-ЭРИ-МС(МС/МС).

4.3. Выбор характеристичных ММР-переходов

Для выбора характеристичных ММР-переходов были изучены масс-спектры ионов-продуктов гидразонов при ЭС 20, 40 и 60 В (рис. 15). Затем в полученных спектрах были выбраны 2-4 наиболее интенсивных перехода. После этого в рамках одного ввода пробы были получены зависимости площади пика для каждого перехода от ЭС (10, 20, 30, 40, 50, 60 В). Критерием выбора был максимум площади пика соответствующего перехода, при этом если максимум наблюдали между парой соседних значений ЭС, то оптимальное значение выбирали как среднее. 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. 10).

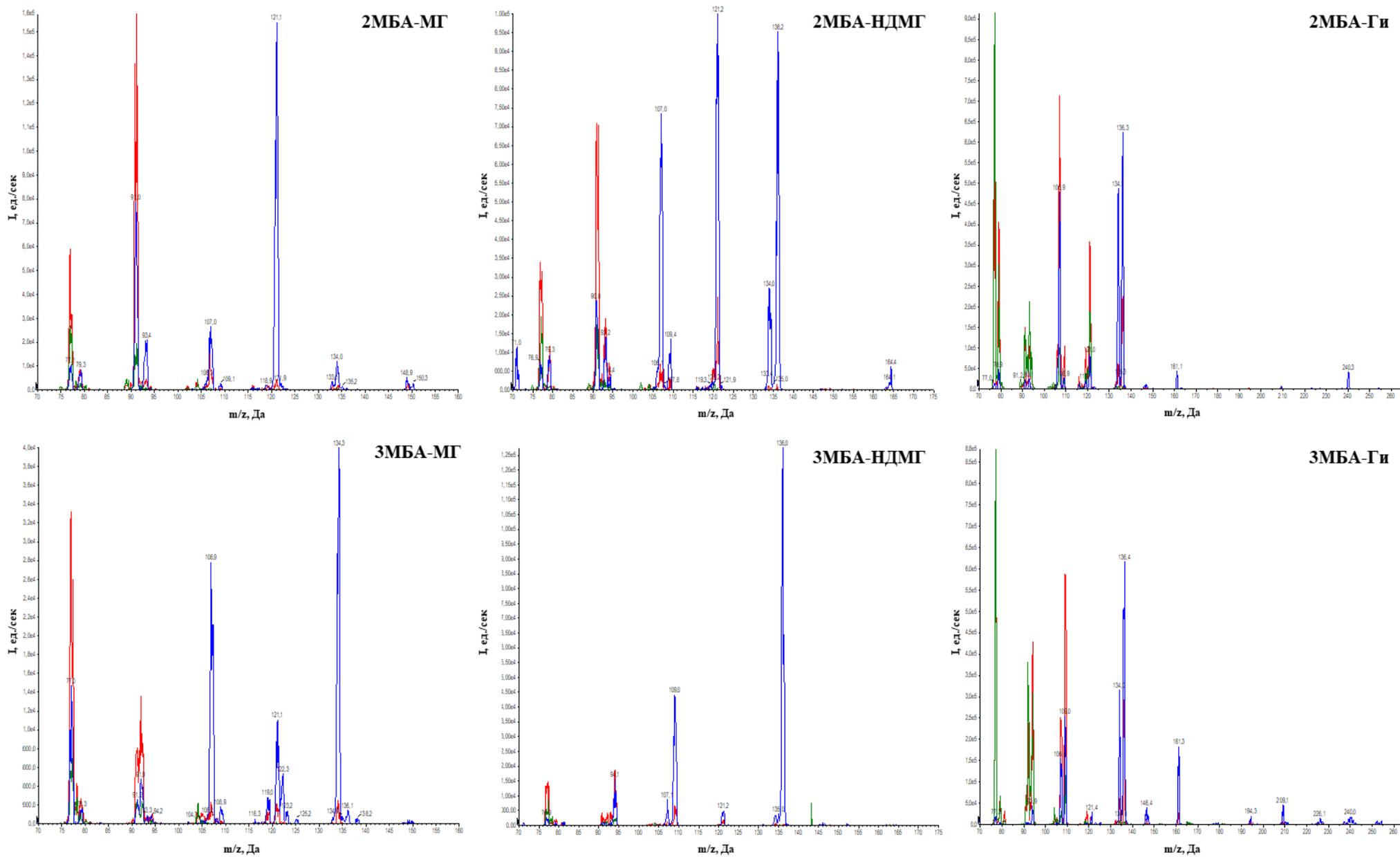


Рис. 15. Экспериментальные масс-спектры ионов-продуктов гидразонов при ЭС – 20, 40 и 60 В

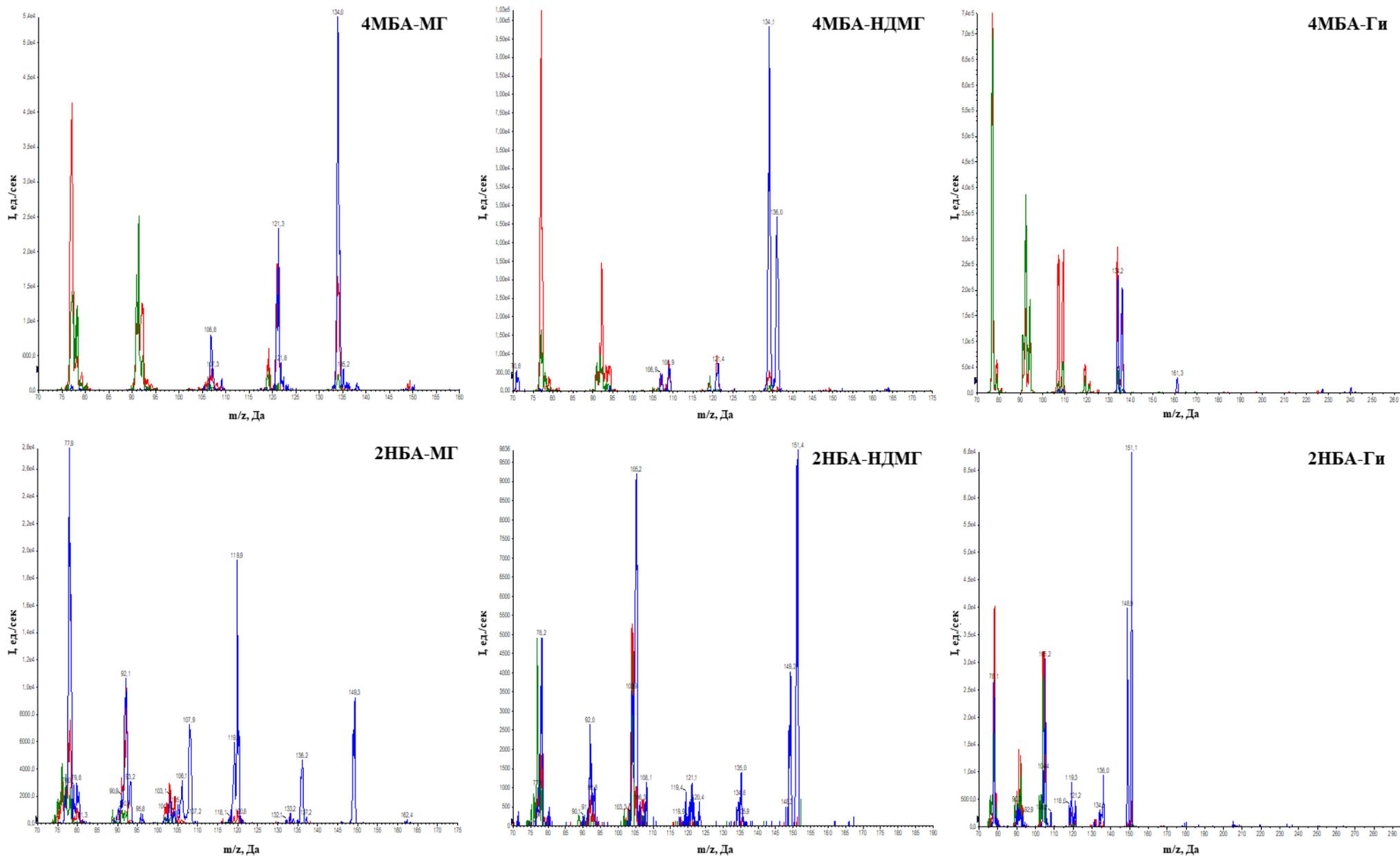


Рис. 15 (продолжение). Экспериментальные масс-спектры ионов-продуктов гидразонов при ЭС – 20, 40 и 60 В

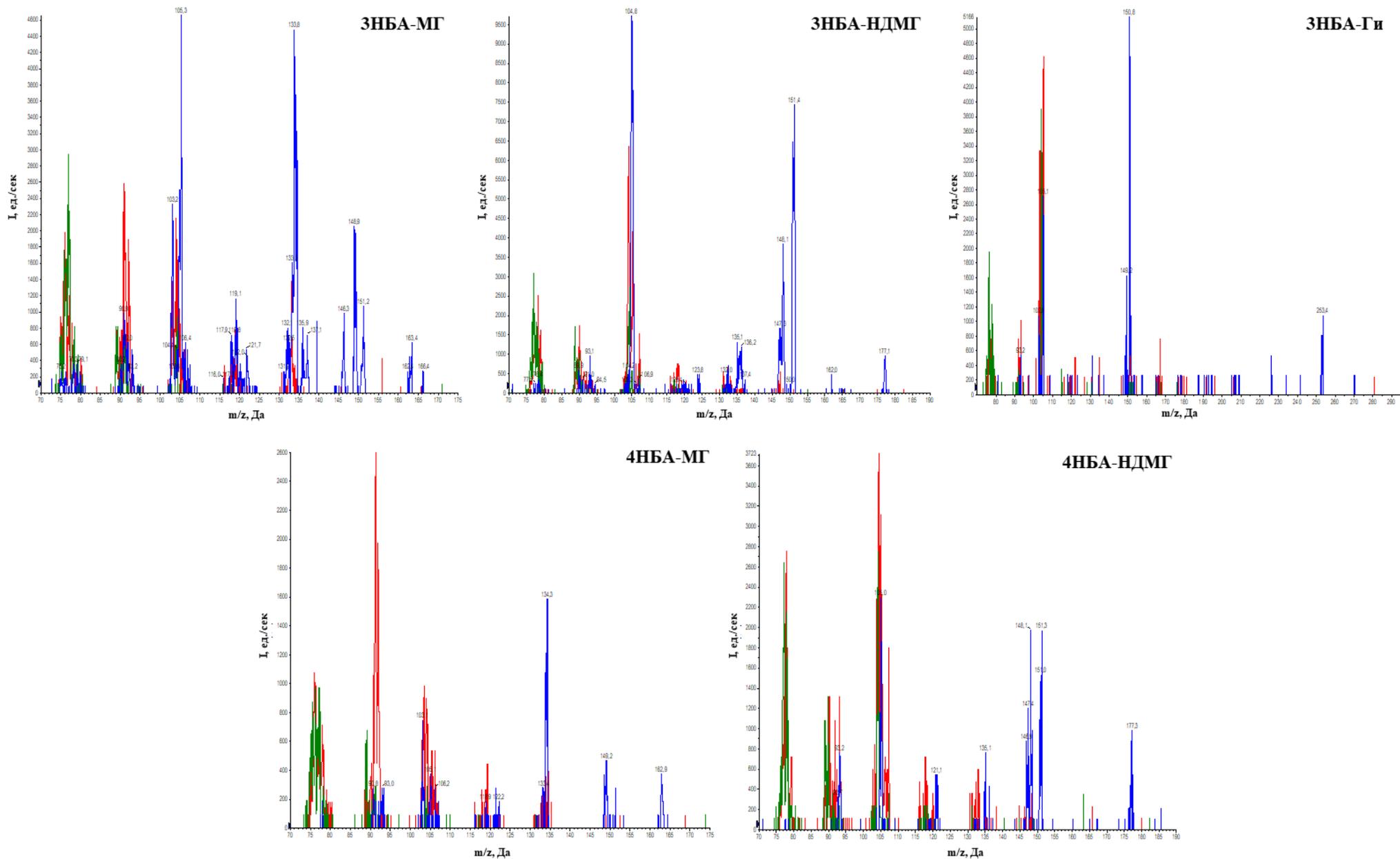


Рис. 15 (продолжение). Экспериментальные масс-спектры ионов-продуктов гидразонов при ЭС – 20, 40 и 60 В

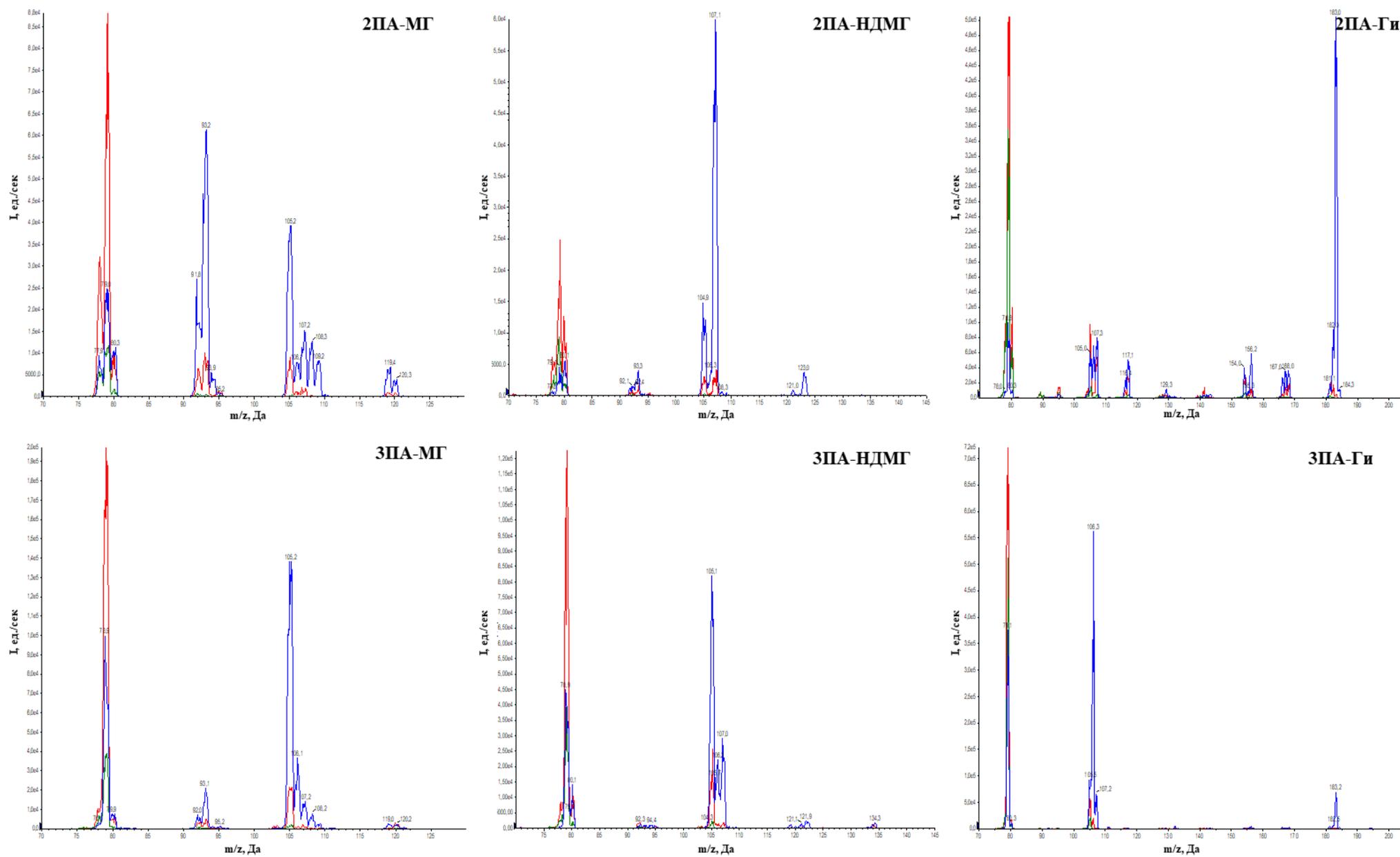


Рис. 15 (продолжение). Экспериментальные масс-спектры ионов-продуктов гидразонов при ЭС – 20, 40 и 60 В

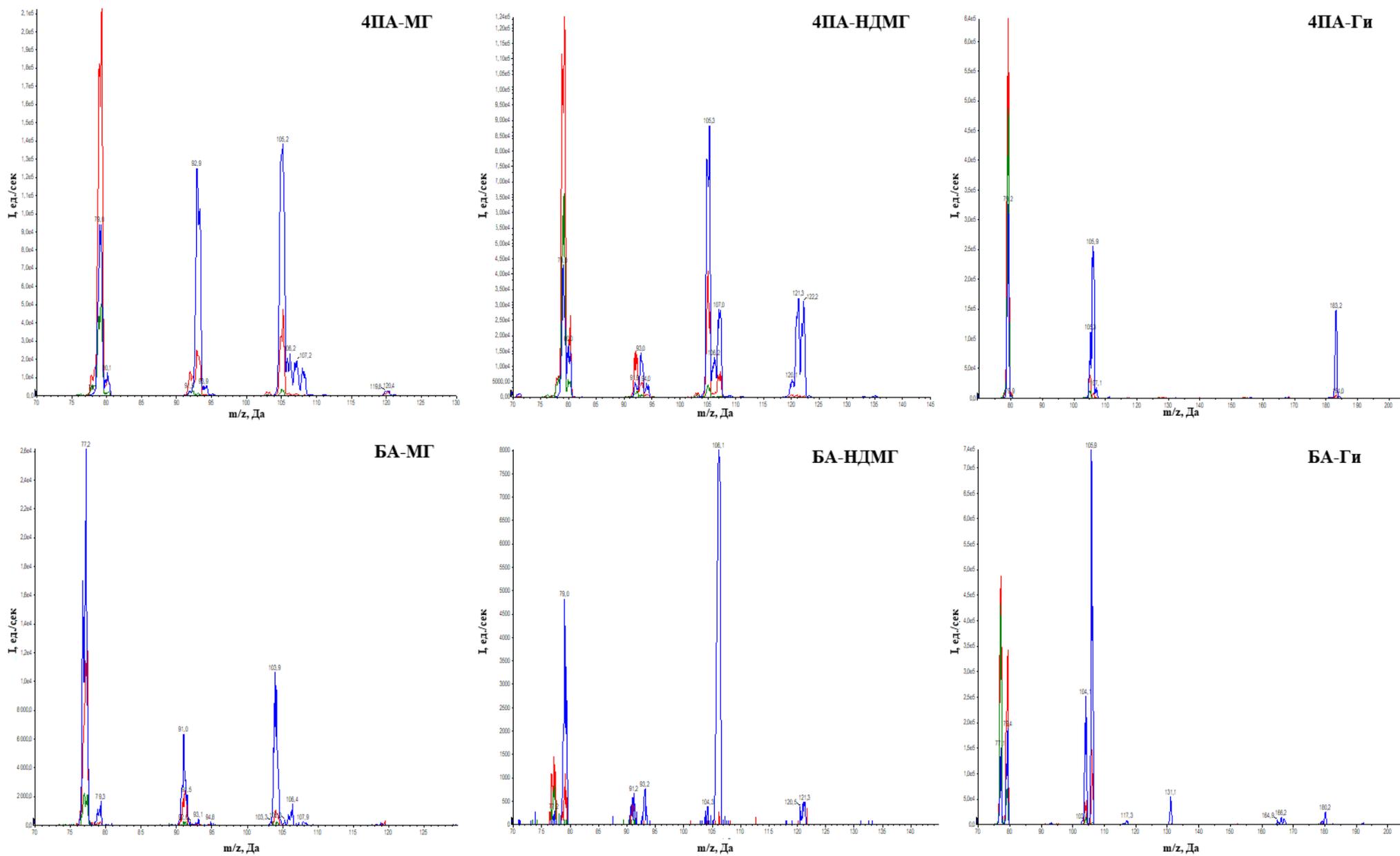


Рис. 15 (продолжение). Экспериментальные масс-спектры ионов-продуктов гидразонов при ЭС – 20, 40 и 60 В

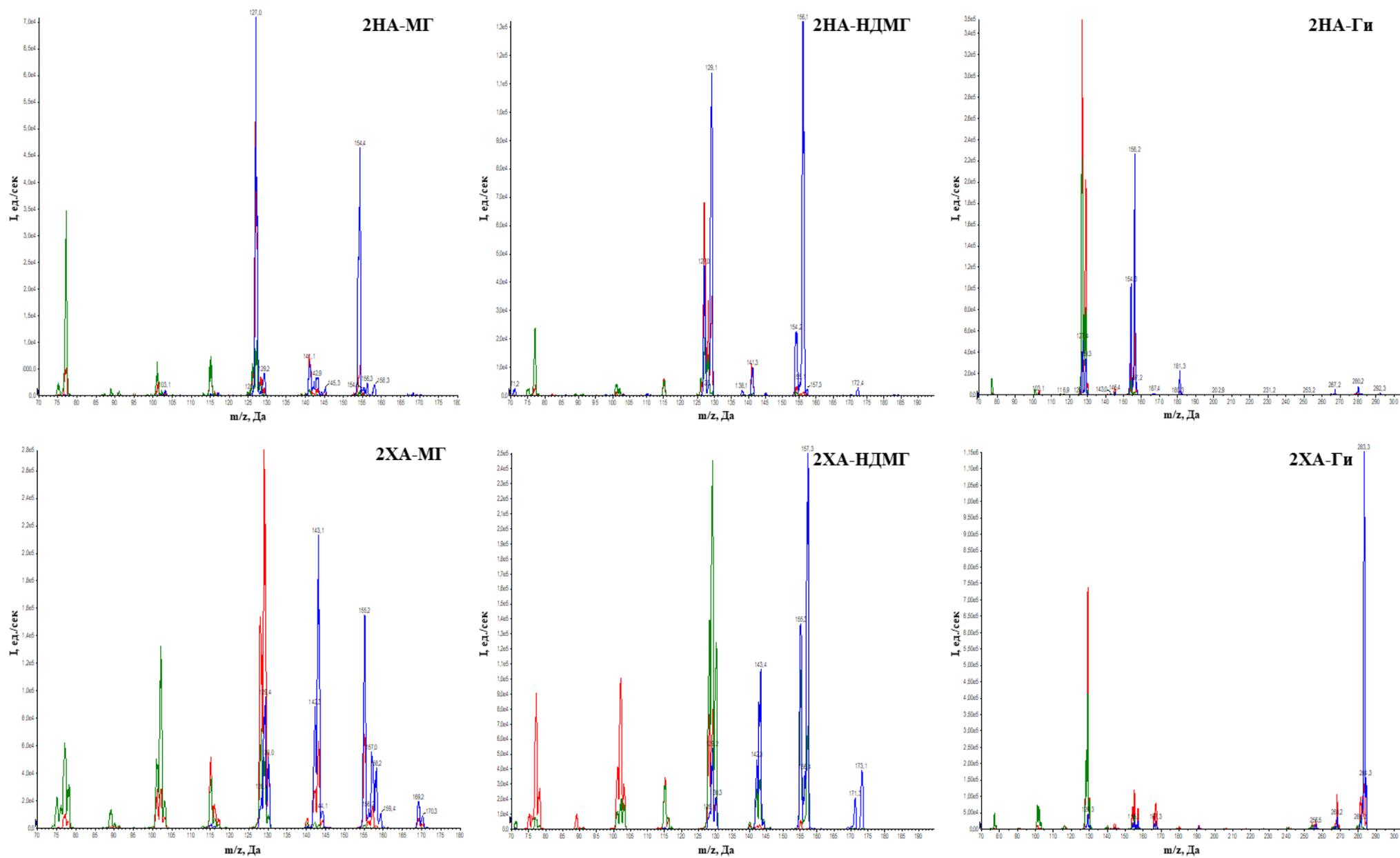


Рис. 15 (продолжение). Экспериментальные масс-спектры ионов-продуктов гидразонов при ЭС – 20, 40 и 60 В

ГЛАВА 5. РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ ПОДХОДА К ОДНОВРЕМЕННОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ ГИДРАЗИНОВ В ПРИРОДНЫХ И ПИТЬЕВЫХ ВОДАХ

5.1. Расщепление полезного сигнала определения гидразинов

Как было отмечено выше, при образовании гидразинов и азинов возможно получение смеси их геометрических изомеров в соотношениях, которые зависят от природы реагирующих гидразина и карбонильного соединения (см. гл. 3.1). В процессе разработки 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. По всей видимости, эти пики соответствуют разным геометрическим изомерам. По отношению площадей этих пиков были оценены соотношения изомеров в реакционной смеси (табл. 14).

Таблица 14. Соотношение изомеров гидразинов (в %) в реакционных смесях (указаны в порядке увеличения времени удерживания)

Реагент	МГ	НДМГ	Ги
БА	100/-	64.9/35.1	5.2/94.8
2МБА	100/-	100/-	3.3/96.7
3МБА	95.4/4.6	84.5/15.5	5.2/94.8
4МБА	100/-	93.0/7.0	6.6/93.4
2НБА	98.0/2.0	100/-	1.2/98.8
3НБА	66.0/34.0	99.2/0.8	6.2/93.8
4НБА	98.3/1.7	100/-	–
2ПА	95.9/4.1	100/-	2.6/97.4
3ПА	97.4/2.6	100/-	6.1/93.9
4ПА	97.8/2.2	100/-	4.9/95.1
2НА	81.9/18.1	100/-	2.9/97.1
2ХА	100/-	100/-	0.5/99.5

Для алкилгидразинов минорные изомеры обладали большим удерживанием, чем мажорные, а в случае азинов, наоборот. Мажорные пики могут соответствовать наиболее устойчивым стереоизомерным формам, которыми из-за стерических соображений являются син-изомеры для алкигидразинов и син-транс-син-изомеры для азинов. В этом случае минорными пиками будут являться анти- и анти-транс-анти-изомеры соответственно. И действительно, для орто-изомеров и в случае производных с объемными нафталиновыми и хинолиновыми ароматическими структурами наблюдаются меньшие доли минорных изомеров. Дополнительная

стабилизация син-изомеров для 2ПА и 2МБА обеспечивается трехкоординационной водородной связью с участием аминных атомов азота гидразиновой компоненты и гетероатома в составе карбонильной.

Таким образом, в результате нестереоселективности реакций гидразинов с альдегидами происходит расщепление полезного аналитического сигнала. Однако для большинства вышерассмотренных производных доли минорных составляющих за некоторыми исключениями невелики.

5.2. Характеристики хроматографического определения гидразинов и анализ реальных водных объектов

Для оценки метрологических характеристик предложенных способов определения проводили анализ водных образцов с известной добавкой гидразинов. Для одновременного определения гидразинов в питьевой воде использовали метод ОФ ВЭЖХ-СФ, а в природной – ОФ ВЭЖХ-МС/МС. Аналитическим сигналом для построения градуировочной зависимости служила площадь пика соответствующего гидразона. Метод наименьших квадратов использовали для аппроксимации и расчета параметров линейной регрессии. Предел обнаружения оценивали как минимальное количество аналита, которое может быть обнаружено по отношению сигнал/шум (S/N) = 3. Нижнюю границу определяемых концентраций определяли как $S/N = 10$. Правильность предложенных способов подтверждали методом «введено–найдено» на двух уровнях концентрации. Сходимость рассчитывали по трем параллельным результатам анализа пробы в течение одного дня. В табл. 15 приведены характеристики хроматографического определения гидразинов с применением разработанного подхода, а на рис. 16, 17 экспериментальные хроматограммы анализа образцов вод.

Несмотря на то, что в случае 4НБА не образуется соответствующего азина, площадь пика побочного продукта линейно зависит от концентрации Ги, что позволяет проводить его ОФ ВЭЖХ-СФ определение. Как видно из представленных данных, разработанные способы определения гидразинов характеризуются приемлемыми правильностью, воспроизводимостью и высокой чувствительностью, а также широким линейным диапазоном определяемых концентраций, что позволяет их рекомендовать для надежного определения низких концентраций гидразинов в водных образцах.

Таблица 15. 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, мкг/л	Найдено, мкг/л	S_r , %
БА	СФ	Ги	$(6.7 \pm 0.2) \cdot C$	0.9989	0.3	1.0	1-500	1/125	$(0.97 \pm 0.09) / (127 \pm 6)$	3.9/1.9
		МГ	$(1.97 \pm 0.07) \cdot C$	0.9983	2	6.8	7-1000	7/250	$(6.4 \pm 0.9) / (252 \pm 19)$	5.9/3.0
		НДМГ	$(1.84 \pm 0.04) \cdot C$	0.9991	1.3	4.2	5-1000	5/250	$(5.1 \pm 0.5) / (247 \pm 14)$	3.8/2.2
	МС/МС	Ги	$(20715 \pm 748) \cdot C$	0.9993	0.005	0.015	0.015-40	0.015/10	$(0.016 \pm 0.002) / (10.3 \pm 0.6)$	5.4/2.3
		МГ	$(1255 \pm 74) \cdot C$	0.9982	0.11	0.36	0.5-1000	0.5/250	$(0.49 \pm 0.06) / (254 \pm 18)$	5.1/2.9
		НДМГ	$(459 \pm 27) \cdot C$	0.9981	0.12	0.41	0.5-1000	0.5/250	$(0.50 \pm 0.05) / (250 \pm 16)$	4.4/2.6
2МБА	СФ	Ги	$(5.0 \pm 0.1) \cdot C$	0.9991	0.3	1.0	1-500	1/125	$(1.0 \pm 0.1) / (123 \pm 9)$	4.1/2.9
		МГ	$(1.55 \pm 0.05) \cdot C$	0.9985	1.5	5.0	5-1000	5/250	$(4.8 \pm 0.5) / (249 \pm 17)$	4.0/2.8
		НДМГ	$(1.54 \pm 0.04) \cdot C$	0.9990	1.2	4.1	5-1000	4/250	$(3.9 \pm 0.4) / (252 \pm 17)$	4.4/2.8
	МС/МС	Ги	$(125558 \pm 5277) \cdot C$	0.9991	0.0013	0.0044	0.005-8	0.005/2	$(0.0050 \pm 0.0007) / (2.1 \pm 0.1)$	5.3/2.8
		МГ	$(7137 \pm 312) \cdot C$	0.9991	0.03	0.090	0.1-120	0.1/30	$(0.10 \pm 0.01) / (30 \pm 2)$	3.9/2.3
		НДМГ	$(3072 \pm 117) \cdot C$	0.9992	0.04	0.14	0.15-250	0.15/75	$(0.15 \pm 0.01) / (74 \pm 4)$	4.1/2.3
3МБА	СФ	Ги	$(6.0 \pm 0.1) \cdot C$	0.9994	0.4	1.4	1-500	1.5/125	$(1.4 \pm 0.1) / (124 \pm 7)$	4.1/2.3
		МГ	$(2.14 \pm 0.09) \cdot C$	0.9978	2	7.5	8-1000	8/250	$(7.9 \pm 0.9) / (245 \pm 17)$	4.7/2.9
		НДМГ	$(1.84 \pm 0.05) \cdot C$	0.9991	1.1	3.1	3-1000	3/250	$(2.9 \pm 0.3) / (252 \pm 16)$	3.9/2.6
	МС/МС	Ги	$(80765 \pm 3461) \cdot C$	0.9990	0.0010	0.0033	0.004-10	0.004/2.5	$(0.0042 \pm 0.0005) / (2.5 \pm 0.1)$	4.9/2.3
		МГ	$(2187 \pm 97) \cdot C$	0.9990	0.05	0.18	0.2-500	0.2/125	$(0.20 \pm 0.02) / (126 \pm 7)$	5.0/2.3
		НДМГ	$(5190 \pm 200) \cdot C$	0.9992	0.022	0.073	0.08-160	0.08/40	$(0.079 \pm 0.008) / (40 \pm 2)$	4.3/2.5
4МБА	СФ	Ги	$(8.9 \pm 0.2) \cdot C$	0.9994	0.15	0.50	0.5-500	0.5/125	$(0.47 \pm 0.05) / (124 \pm 6)$	4.6/1.9
		МГ	$(2.7 \pm 0.1) \cdot C$	0.9982	1.5	4.9	5-1000	5/250	$(5.1 \pm 0.5) / (250 \pm 16)$	4.0/2.6
		НДМГ	$(1.89 \pm 0.05) \cdot C$	0.9990	0.7	2.5	2.5-1000	2.5/250	$(2.7 \pm 0.3) / (248 \pm 23)$	4.3/3.7
	МС/МС	Ги	$(183160 \pm 7417) \cdot C$	0.9991	0.0009	0.003	0.003-5	0.003/1.25	$(0.0029 \pm 0.0004) / (1.24 \pm 0.08)$	5.1/2.8
		МГ	$(3437 \pm 142) \cdot C$	0.9992	0.05	0.171	0.2-250	0.2/75	$(0.20 \pm 0.02) / (74 \pm 5)$	4.1/2.8
		НДМГ	$(3407 \pm 162) \cdot C$	0.9988	0.03	0.10	0.1-250	0.1/75	$(0.10 \pm 0.01) / (75 \pm 6)$	4.5/3.0

Таблица 15 (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, мкг/л	Найдено, мкг/л	S_r , %
2НБА	СФ	Ги	$(4.9 \pm 0.1) \cdot C$	0.9994	0.6	1.9	2-500	2/125	$(2.0 \pm 0.2)/(124 \pm 7)$	3.6/2.2
		МГ	$(1.92 \pm 0.07) \cdot C$	0.9984	2	8.1	8-1000	8/250	$(8.0 \pm 0.8)/(251 \pm 21)$	4.2/3.4
		НДМГ	$(1.33 \pm 0.03) \cdot C$	0.9993	2	6.9	7-1000	7/250	$(7.0 \pm 0.5)/(252 \pm 10)$	3.1/1.6
	МС/МС	Ги	$(7940 \pm 372) \cdot C$	0.9989	0.015	0.049	0.05-100	0.05/25	$(0.050 \pm 0.005)/(25 \pm 2)$	3.8/2.6
		МГ	$(812 \pm 47) \cdot C$	0.9983	0.07	0.23	0.25-1000	0.25/250	$(0.25 \pm 0.03)/(247 \pm 21)$	4.9/3.4
		НДМГ	$(384 \pm 16) \cdot C$	0.9991	0.2	0.68	0.7-1000	0.7/250	$(0.70 \pm 0.07)/(251 \pm 16)$	3.8/2.6
3НБА	СФ	Ги	$(7.2 \pm 0.2) \cdot C$	0.9991	0.3	1.1	2-500	1/125	$(0.99 \pm 0.08)/(127 \pm 7)$	3.5/2.1
		МГ	$(2.92 \pm 0.09) \cdot C$	0.9989	1.5	4.9	5-1000	5/250	$(5.2 \pm 0.6)/(252 \pm 14)$	4.3/2.3
		НДМГ	$(2.02 \pm 0.05) \cdot C$	0.9993	1.7	5.7	6-1000	6/250	$(6.0 \pm 0.4)/(255 \pm 12)$	2.5/1.9
	МС/МС	Ги	$(864 \pm 53) \cdot C$	0.9981	0.11	0.35	0.4-1000	0.4/250	$(0.04 \pm 0.04)/(250 \pm 14)$	3.9/2.3
		МГ	$(289 \pm 22) \cdot C$	0.9969	0.4	1.33	1.5-1000	1.5/250	$(1.5 \pm 0.2)/(252 \pm 18)$	5.2/2.8
		НДМГ	$(453 \pm 26) \cdot C$	0.9983	0.17	0.58	0.6-1000	0.6/250	$(0.6 \pm 0.06)/(251 \pm 17)$	3.7/2.7
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

Таблица 15 (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, мкг/л	Найдено, мкг/л	S_r , %
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

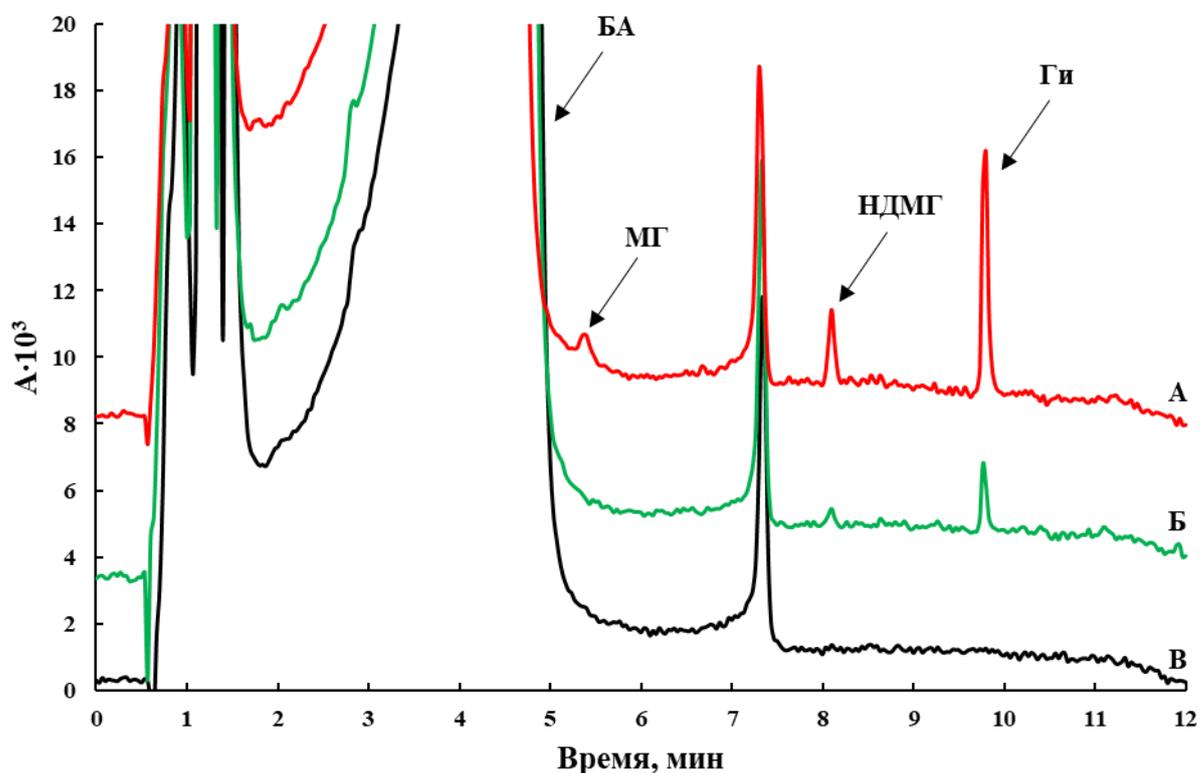


Рис. 16. Наложение экспериментальных хроматограмм образцов питьевой воды с добавкой по 5 мкг/л каждого гидразина (А), по 1 мкг/л (Б) и без добавки (В). Метод – ОФ ВЭЖХ-СФ (условия см. гл. 2.2.3.1.). Длина волны детектирования – 300 нм.

Результаты, показывающие, что заметно более высокую чувствительность ОФ ВЭЖХ-МС/МС определения по сравнению с их аналогами обеспечивает применение гетероциклических ароматических альдегидов. Для нитропроизводных почти нет выигрыша в чувствительности при использовании МС/МС-детектирования по сравнению с более доступным вариантом использования СФ детектора из-за низкой эффективности ионизации (см. гл. 4.1.). Стандартное отклонение результатов параллельных измерений не превышает 6% даже на уровне низких концентраций, за исключением случаев низкой стабильности производных (см. гл. 3.8.).

В соответствии с санитарно-гигиеническими нормативами (табл. 2) целесообразно применение ОФ ВЭЖХ-СФ метода для определения Ги в питьевых водах на уровне ПДК. 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.

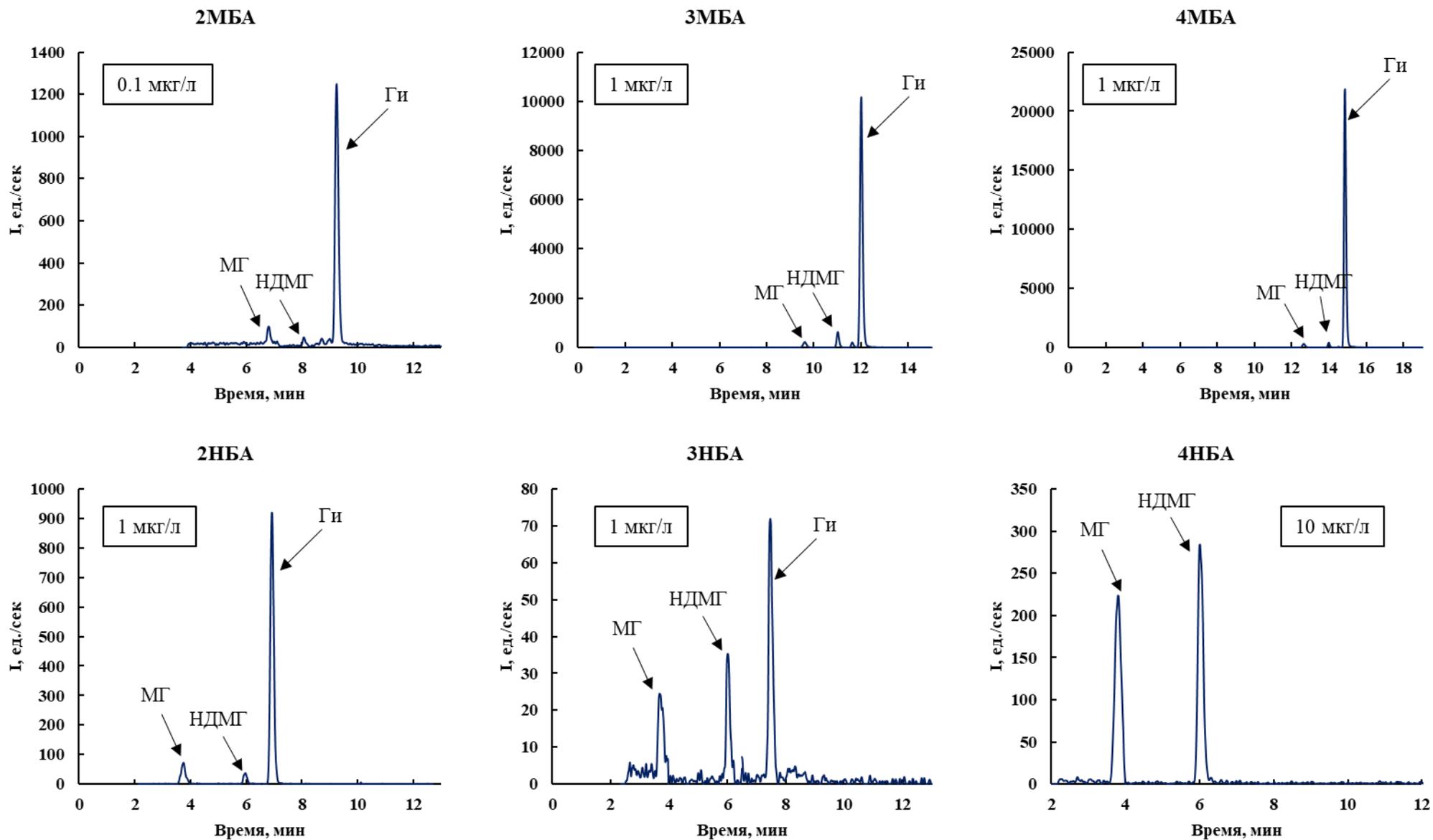


Рис. 17. Экспериментальные хроматограммы определения смеси ГИ, МГ и НДМГ в природной воде методом ОФ ВЭЖХ-ЭРИ-МС/МС (условия см. гл. 2.2.2.3.)

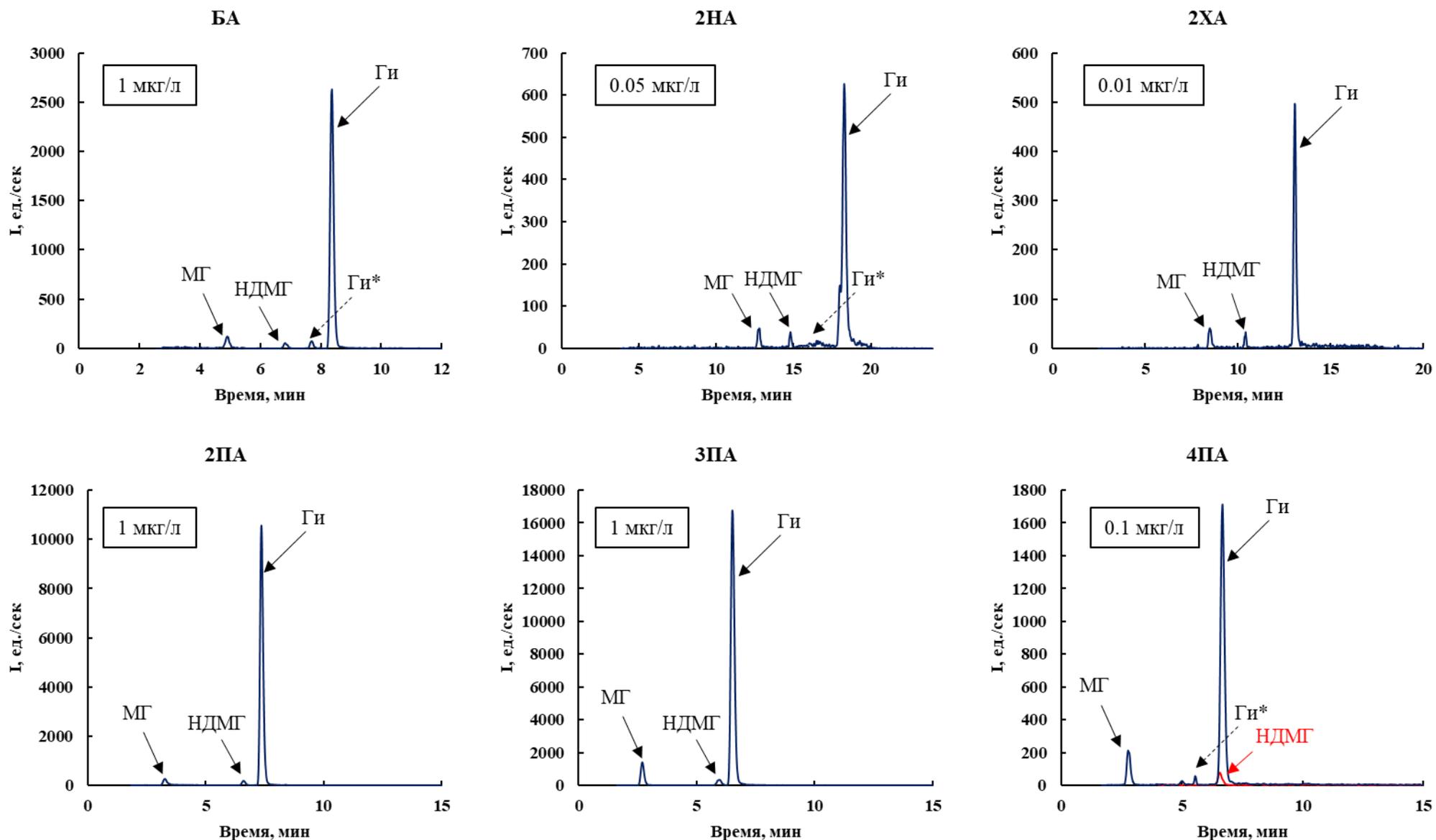


Рис. 17 (продолжение). Экспериментальные хроматограммы определения смеси Ги, МГ и НДМГ в природной воде методом ОФ ВЭЖХ-ЭРИ-МС/МС (условия см. гл. 2.2.2.3.). Ги* – анти-транс-анти-изомер

Таблица 16. Сравнение методов высокочувствительного определения гидразинов в водных объектах

Аналит	Метод	Пробоподготовка*	C_{\min} , мкг/л	ЛДОК, мкг/л	S_r , %	Лит. источник
НДМГ	КГХ-ЭЗД	ПФБХ (КБР, 20°C, 30 мин), ЖЖЭ	0.04	0.1-100	4.1	[187]
НДМГ	КГХ-АФД	4НБА, ЦБР pH 5.5, 35°C, 30 мин, ЖЖЭ	0.03	0.03-0.6	25	[198]
Ги	КГХ-МС	ОФА (1М HCl pH 2, 70°C, 20 мин), ЖЖЭ	0.002	0.05-100	13	[207]
Ги	КГХ-МС/МС	Ацетон (ФБР pH 5, 20°C, 30 мин), ЖЖЭ	0.0007	0.001-0.04	27.4	[210]
Ги	КГХ-МС/МС	ПХФ (КБР pH 9/пиридин, 20°C, 15 мин), ТФМЭ	0.0044	0.050-1	10.9	[211]
Ги	КГХ-МС/МС	ТФПД (КБР pH 9.5, 80°C, 40 мин), ТФМЭ	0.002	0.01-10	10.2	[212]
НДМГ	ИХ ВЭЖХ-АД	on-line динамическое сорбционное концентрирование	0.02	0.05-2	5	[224]
Ги	ИХ ВЭЖХ-АД	–	0.024	0.1-200	10	[223]
Ги	HPLC ВЭЖХ- АД	–	0.07	0.2-3000	7.6	[231]
МГ			0.13	0.4-4000	6.7	
НДМГ			0.1	0.3-1000	5.3	
Ги	ОФ ВЭЖХ-СФ	ХДНБФ (ФБР pH 6.5-7.0, 20°C, 20 мин), ЖЖЭ	0.05	0.12-60	8	[269]
НДМГ	ОФ ВЭЖХ-СФ	ГО (ФБР pH 3.5, 25°C, 20 мин), ТФЭ	0.005	0.01-20	25	[267]
Ги	ОФ ВЭЖХ-ФЛ	НДА (ББР pH 9.0, 20°C, 1 мин)	0.05	0.1-50	5.9	[262]
МГ			0.05	0.1-50	5.8	
НДМГ			1	2.5-5000	4.6	
Ги	ОФ ВЭЖХ- МС/МС	2НБА (ФБР/ЦБР pH 7.4, 35°C, 30 мин)	0.04	0.08-250	10	[242]
Ги	ОФ ВЭЖХ- СФ-МС/МС	2НБА (ГБР pH 8.5, 20°C, 45 мин)	0.015	0.05-500	3.8	Данная работа
МГ			0.07	0.25-1000	4.9	
НДМГ			0.2	0.7-1000	3.8	
Ги	ОФ ВЭЖХ- МС/МС	НДА (0.1 М HCl pH 2, 20°C, 1 мин)	0.003	0.01-1	9	[265]
НДМГ	ОФ ВЭЖХ- МС/МС	ФГО (АБР pH 5, 70°C, 10 мин)	0.01	0.03-1	16	[268]
Ги	ОФ ВЭЖХ- МС/МС	4МБА (pH не контролировался, 60°C, 30 мин)	–	0.05-12.3	7.5	[254]
Ги	ОФ ВЭЖХ- СФ-МС/МС	4МБА (ГБР pH 8.5, 20°C, 30 мин)	0.0009	0.003-500	5.1	Данная работа
МГ			0.05	0.2-1000	4.1	
НДМГ			0.03	0.1-1000	4.5	
Ги	ОФ ВЭЖХ- МС/МС	4МеБА (pH не контролировался, 20°C, 40 мин)	0.002	0.005-50	3.9	[256]
Ги	ОФ ВЭЖХ- СФ-МС/МС	2ХА (ГБР pH 8.5, 20°C, 30 мин)	0.0003	0.001-500	4.4	Данная работа
МГ			0.0019	0.007-1000	3.4	
НДМГ			0.002	0.008-1000	4.9	

* ЖЖЭ – жидкостно-жидкостная экстракция; ТФМЭ – твердофазная микроэкстракция; ТФЭ – твердофазная экстракция

В табл. 16 представлено сравнение характеристик методов высокочувствительного определения гидразинов в объектах с водной матрицей. Как

уже отмечалось выше, методы прямого определения гидразинов просты и экспрессны, но обеспечивают нижние границы определяемых концентраций от 100 нг/л и выше. Даже использование методов сорбционного концентрирования, имеющих ряд существенных ограничений, не позволяет добиться значительного повышения чувствительности [224].

Известные подходы к определению гидразинов с использованием предварительной дериватизации с последующим ОФ ВЭЖХ-СФ анализом реакционных смесей характеризуется чувствительностью от 1-10 мкг/л (табл. 7). Предложенные в данной работе способы определения гидразинов не хуже, а в ряде случаев превосходят аналоги (табл. 15, 16). Так в рамках предложенного подхода определение Ги после его дериватизации БА обеспечивает в 17 раз, а определение НДМГ в виде производного с 4НБА в почти 60 раз большую чувствительность по сравнению с аналогичными подходами, описанными в работах [238, 244]. Высокие значения переделов определения, вероятно, обусловлены использованием авторами данных работ нагревания реакционных смесей до 70-75°C, что, как было показано, негативно сказывается на выходе продуктов реакции.

Подходы, основанные на применении ЖЖЭ и ТФЭ, как видно из данных табл. 16, характеризуются высокой чувствительностью. Однако использование дополнительных стадий очистки и концентрирования целевых компонентов не только сказалось на общей продолжительности анализа, которая в ряде случаев составляла более 2.5 ч на одну пробу [210], но и негативно отразилось на воспроизводимости определения на уровне низких концентраций ($s_r = 13-27\%$) [198, 207, 210, 267]. Сорбция компонентов с использованием более современного метода ТФМЭ предполагала нагревание реакционных смесей, что сказалось на чувствительности и воспроизводимости КГХ-МС/МС определения ($s_r \approx 10\%$), предложенного в работах [211, 212].

ОФ ВЭЖХ-МС/МС подход с применением 2НБА для определения Ги в работе [242] при схожих характеристиках использованного оборудования обеспечивает меньшую в 3 раза чувствительность и воспроизводимость определения, чем предложенный в данной работе подход. По всей видимости, авторам не удалось добиться количественного выхода продукта дериватизации, поскольку в условиях

использованного рН 7.4 скорость образования соответствующего азина невелика (см. рис. 3).

Предлагаемый способ определения Ги после его дериватизации с 4МБА при сопоставимой воспроизводимости более чем в 10 раз превосходит по чувствительности известный способ его определения методом ОФ ВЭЖХ-МС/МС [254]. Авторы проводили реакцию получения производного Ги с 4МБА при нагревании реакционной смеси до 60°C, не контролируя рН. Низких выход соответствующего азина в этих условиях (см. рис. 8) является причиной меньшей чувствительности определения даже с применением более современного аналитического оборудования.

Использование 2ХА в качестве группового реагента для дериватизации гидразинов позволяет проводить их последующее ОФ ВЭЖХ-МС/МС определение на уровне ОДУ и ниже. Благодаря большой молекулярной массе образующихся производных и наличию в их структуре пиридинового атома азота, способствующего ионизации, данный вариант определения гидразинов превосходит по характеристикам аналоги (см. табл. 16) и на момент написания данной работы является самым чувствительным подходом к определению гидразинов в водных матрицах.

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 обеспечило хорошую воспроизводимость и правильность определения. Дополнительным преимуществом предложенного подхода 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, смывы с поверхностей и дистилляты из почв, фармпрепаратов, биоматериалов и др.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований поставленная цель работы достигнута. **Основные результаты**, полученные в работе, представлены ниже:

В работе провели выбор условий разделения производных Ги, МГ и НДМГ с 12-ю ароматическими альдегидами. По полученным электронным спектрам поглощения были определены оптимальные длины волн для детектирования в варианте СФ-детектирования. Методом однофакторной оптимизации выбраны параметры МС/МС детектирования, такие как ПД и ЭС характеристичных ММР-переходов.

Впервые предложено использование иминного катализа для получения гидразонов с их последующим определением методом ОФ ВЭЖХ. Изучена эффективность применения 5 потенциальных иминных катализаторов. Предложены мягкие условия дериватизации гидразинов в присутствии 0.56 М глицина при рН 8.5, обеспечивающие количественный выход продуктов реакции для всех использованных гидразинов за приемлемое время. Полнота протекания реакции была подтверждена методом ИХ ВЭЖХ-АД. Изучено влияние концентрации реагента и температуры реакции на скорость образования гидразинов. Для повышения устойчивости растворов гидразинов предложено использование добавки 3 мМ дитиотреитола в качестве консерванта.

Установленные в работе закономерности легли в основу разработки простых, высокочувствительных и экспрессных способов определения гидразинов в питьевой и природной воде. Оценены метрологические характеристики определения Ги, МГ и НДМГ в водных объектах методом ОФ ВЭЖХ-СФ и ОФ-ВЭЖХ-МС/МС для всех 12 реагентов.

На основании полученных на всех этапах исследования результатов были выявлены закономерности влияния природы гидразина и реагента на характеристики реакции образования производного и чувствительность определения. Для чувствительного определения гидразинов в варианте СФ-детектирования рекомендованы реагенты с конденсированной ароматической структурой, обеспечивающие высокую интенсивность поглощения в длинноволновой области УФ-спектра. Гетероциклические реагенты и реагенты с

донорными заместителями рекомендованы для высокочувствительного определения гидразинов методом ОФ ВЭЖХ-ЭРИ-МС/МС.

На основании обобщения представленных результатов предложен подход к определению Ги, МГ и НДМГ, основанный на дериватизации ароматическим альдегидом, содержащим бициклический гетероцикл, таким как 2ХА, при применении иминного катализа и последующим определении дериватов методом ОФ ВЭЖХ-СФ-МС/МС, позволяющий проводить определение 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 способ определения гидразинов не требует проведения дополнительных стадий выделения и концентрирования производных и на данный момент не имеет аналогов по чувствительности, воспроизводимости, линейному диапазону и числу одновременно определяемых компонентов. Разработанный подход рекомендован к определению следовых количеств гидразинов в любых объектах с водной матрицей, таких как водные объекты, кислотные вытяжки, смывы с поверхностей и дистилляты из почв, фармпрепаратов, биоматериалов и др.

ВЫВОДЫ

1. Для жидкостно-хроматографического определения гидразина (Ги), метилгидразина (МГ) и несимметричного диметилгидразина (НДМГ) предложены доступные дериватирующие реагенты класса ароматических альдегидов – бензальдегид (БА), 2-, 3-, 4-метоксибензальдегиды (2МБА, 3МБА и 4МБА), 2-, 3-, 4-нитробензальдегиды (2НБА, 3НБА и 4НБА), 2-нафталиальдегид (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 рН 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 рН 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.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

Сокращение	Расшифровка сокращения (аббревиатуры)
<i>1Х24ДНБ</i>	– 1-хлор-2,4-динитробензол
<i>2ГНА</i>	– 2-Гидрокси-1-нафтальдегид
<i>2МБА</i>	– 2-метоксибензальдегид
<i>2НА</i>	– 2-нафталинальдегид
<i>2НБА</i>	– 2-нитробензальдегид
<i>2ПА</i>	– 2-пиридинальдегид
<i>2ФА</i>	– 2-фуральдегид (фурфурол)
<i>2ХА</i>	– 2-хинолинальдегид
<i>34ДМБА</i>	– 3,4-диметоксибензальдегид
<i>3МБА</i>	– 3-метоксибензальдегид
<i>3НБА</i>	– 3-нитробензальдегид
<i>4Г3МБА</i>	– 4-гидрокси-3-метоксибензальдегид (ванилин)
<i>4ГБА</i>	– 4-гидроксибензальдегид
<i>4ДАБ</i>	– 4-диметиламинобензальдегид
<i>4МБА</i>	– 4-метоксибензальдегид
<i>4МеБА</i>	– 4-метилбензальдегид
<i>4НБА</i>	– 4-нитробензальдегид
<i>4ПА</i>	– 4-пиридинкарбоксальдегид
<i>4ПА</i>	– 4-пиридинкарбоксальдегид
<i>4ХБА</i>	– 4-хлорбензальдегид
<i>4ЦБА</i>	– 4-цианобензальдегид
<i>5Ме2ФА</i>	– 5-метил-2-фурановый альдегид
<i>5Н2ФА</i>	– 5-нитро-2-фуральдегид
<i>5ХСА</i>	– 5-Хлорсалициловый альдегид
<i>6Ме2ПА</i>	– 6-метил-2-пиридинальдегид
<i>ННLC</i>	– Гидрофильная хроматография
<i>Н-PSAM</i>	– Метод стандартных добавок при изопараметрических значениях сигнала фонового компонента
<i>МС/МС</i>	– Тандемная масс-спектрометрия
<i>SCAN</i>	– Режим сканирования масс-спектрометрического детектирования
<i>SIM</i>	– Режим выделенных ионов масс-спектрометрического детектирования
<i>ААР</i>	– Раствор ацетата аммония
<i>АБР</i>	– Ацетатный буферный раствор
<i>АВ</i>	– Воздух атмосферы населенных мест
<i>АГ</i>	– Алкилгидразины
<i>АД</i>	– Амперометрическое детектирование
<i>АДА</i>	– 2,3-антрацендикарбальдегид
<i>АИТЦ</i>	– Ализотиоцианат
<i>АК</i>	– Аскорбиновая к-та
<i>АмБР</i>	– Аммиачный буферный раствор
<i>АФД</i>	– Азот-фосфорный (термоионный) детектор
<i>АцетилГи</i>	– Ацетилгидразин
<i>БА</i>	– Бензальдегид
<i>ББР</i>	– Боратный буферный раствор
<i>БК</i>	– Бензойная к-та
<i>БР</i>	– Буферный раствор
<i>БТФА</i>	– Бензоилтрифторацетон
<i>БХ</i>	– Бензоилхлорид
<i>ВРЗ</i>	– Воздух рабочих зон
<i>ВЭЖХ</i>	– Высокоэффективная жидкостная хроматография
<i>ГБР</i>	– Глициновый буферный раствор
<i>ГЖХ</i>	– Газо-жидкостная хроматография

Сокращение	Расшифровка сокращения (аббревиатуры)
<i>Ги</i>	– Гидразин
<i>ГО</i>	– Глиоксаль
<i>ГОК</i>	– Глиоксильная к-та
<i>ГР</i>	– Градиентный режим элюирования
<i>ГСА</i>	– Гептансульфоновая к-та
<i>ГФМК</i>	– Гептафтормасляная кислота
<i>ГХ</i>	– Газовая хроматография, газохроматографический
<i>ГЭГ</i>	– 2-гидроксиэтилгидразин
<i>ДДСН</i>	– Додecilсульфат натрия
<i>ДиацетилГи</i>	– Диацетилгидразин
<i>ДИПЭА</i>	– Диизопропилэтиламин
<i>ДМА</i>	– Диметиламин
<i>ДМСО</i>	– Диметилсульфоксид
<i>ДТТ</i>	– Дитиотреитол
<i>ДХФ</i>	– Дихлорфлуоресцеин
<i>ЖЖЭ</i>	– Жидкостно-жидкостная экстракция
<i>ИПР</i>	– Ион-парный реагент
<i>ИПХ</i>	– Ион-парная хроматография
<i>ИХ</i>	– Ионная хроматография
<i>КБыХПН</i>	– Культурно-бытового и хозяйственно-питьевого назначения
<i>КБР</i>	– Карбонатный буферный раствор
<i>КГХ</i>	– Капиллярная газовая хроматография (на капиллярных колонках)
<i>КД</i>	– Кондуктометрический детектор
<i>ЛДОК</i>	– Линейный диапазон определяемых концентраций
<i>МА</i>	– Метиламин
<i>МГ</i>	– Метилгидразин
<i>ММР</i>	– Режим мониторинга множественных реакций tandemного масс-спектрометрического детектирования
<i>МС</i>	– Масс-спектрометрия, масс-спектрометрическое детектирование
<i>НДА</i>	– 2,3-нафталиндикарбальдегид
<i>НДМГ</i>	– Несимметричный диметилгидразин (1,1-диметилгидразин)
<i>НФ</i>	– Нормально-фазовый
<i>ОБУВ</i>	– Ориентировочный безопасный уровень воздействия
<i>ОДУ</i>	– Ориентировочный допустимый уровень
<i>ОСН</i>	– Октилсульфат натрия
<i>ОФ</i>	– Обращенно-фазовый
<i>ОФА</i>	– О-фталевый альдегид
<i>ПД</i>	– Потенциал декластеризации
<i>ПДК</i>	– Предельно-допустимая концентрация
<i>ПДКК</i>	– 2,6-пиридиндикарбоновая к-та
<i>ПИА</i>	– Проточно-инжекционный анализ
<i>ПИД</i>	– Пламенно-ионизационный детектор
<i>ПФ</i>	– Подвижная фаза
<i>ПФА</i>	– Парофазный анализ
<i>ПФБА</i>	– Пентафторбензальдегид
<i>ПФБХ</i>	– Пентафторбензоилхлорид
<i>ПФПА</i>	– Пентафторпропионовый ангидрид
<i>ПХФ</i>	– Пропилхлорформиат
<i>ПЭГ</i>	– Полиэтиленгликоль (полиэтиленгликолевый)
<i>РХН</i>	– Рыбохозяйственного назначения
<i>СА</i>	– Салициловый альдегид
<i>СМДГ</i>	– Симметричный диметилгидразин (1,2-диметилгидразин)
<i>C_{min}</i>	– Предел обнаружения
<i>C_n</i>	– Нижняя граница определяемых концентраций, предел определения

Сокращение Расшифровка сокращения (аббревиатуры)

<i>СФ</i>	–	Спектрофотометрический, спектрофотометрия
<i>ТГФ</i>	–	Тетрагидрофуран
<i>Трис</i>	–	Три(гидроксиметил)аминометан
<i>ТФАА</i>	–	Трифторацетилацетон
<i>ТФМЭ</i>	–	Твердофазная микроэкстракция
<i>ТФПД</i>	–	1,1,1-трифтор-2,4-пентандион
<i>ТФТБ</i>	–	3-бутенон (Е) -1,1,1-три-фтор-4-(3-тиенил)
<i>ТФУ</i>	–	Трифторуксусная к-та
<i>ТФЭ</i>	–	Твердофазная экстракция
<i>ТХУ</i>	–	Трихлоруксусная к-та
<i>ТЭА</i>	–	Триэтиламин
<i>УЗ</i>	–	Ультразвуковая обработка
<i>УЗВ</i>	–	Ультразвуковой (ультразвук)
<i>УФ</i>	–	Ультрафиолетовый диапазон спектра электромагнитного излучения
<i>ФБР</i>	–	Фосфатный буферный раствор
<i>ФГО</i>	–	Фенилглиоксаль;
<i>ФенилГи</i>	–	Фенилгидразин
<i>ФЛ</i>	–	Флуориметрические
<i>ФМК</i>	–	Фосфомолибденовая кислота
<i>ФoБР</i>	–	Формиатный буферный раствор
<i>ХАБР</i>	–	Хлорацетатный буферный раствор
<i>ХДНБФ</i>	–	4-хлор-5,7-динитробензофуразан
<i>ХИ</i>	–	Химическая ионизация (при атмосферном давлении)
<i>ХЛ(ХЛД)</i>	–	Хемилюминесцентный, хемилюминесцентный детектор
<i>ЦБР</i>	–	Цитратный буферный раствор
<i>ЦТАБ</i>	–	Цетилтриметиламмония бромид
<i>ЭГ</i>	–	Этилгидразин
<i>ЭИ</i>	–	Электронная ионизация
<i>ЭИТЦ</i>	–	Этилизоотиоцианат
<i>ЭРИ</i>	–	Электрораспылительная ионизация
<i>ЭС</i>	–	Энергия соударений
<i>ЭХЛ</i>	–	Электрогенерированная хемилюминесценция
<i>ЭХФ</i>	–	Этилхлорформиат

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Олдрит Л., Огг Б.* Химия гидразина. М.: Издательство иностранной литературы, 1954. 238 с.
2. *Кнунянц И.* Химическая энциклопедия. Т. 1. М: Советская энциклопедия, 1988. 623 с.
3. *Schirmann J.-P., Bourdauducq P.* Hydrazine. / Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007. V. H. P. 1-18.
4. *Schmidt E.W.* Hydrazine and its Derivatives. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, Inc. 2001. 2121 pp.
5. Вредные химические вещества. Азотсодержащие органические соединения. Справочник. / Под ред. Курляндского Б.А. Л.: Химия, 1992. 432 с.
6. *Huzel D.K., Huang D.H.* Modern engineering for design of liquid-propellant rocket engines. Washington, D.C.: American Institute of Aeronautics and Astronautics. 1992. 425 pp.
7. *Зрелов В.Н. Серегин Е.П.* Жидкие ракетные топлива М.: Химия, 1975. 320 с.
8. Химмотология ракетных и реактивных топлив. / Под ред. Браткова А.А. М.: Химия, 1987. 301 с.
9. *Лопырев В.А., Долгушин Г.В., Воронков М.Г.* Прикладная химия 1,1-диметилгидразина и его производных. // Журн. прикл. химии. 1998. Т.71. №8. С. 1233-1248.
10. *Иоффе Б.В., Кузнецов М.А., Потехин А.А.* Химия органических производных гидразина. Л.: Химия, 1978. 224 с.
11. *Graefe A.F., Kohout P.M., Moss L.K., Wilson E.M.* The lower aliphatic derivatives of hydrazine. / Report № 674 (Special). Project NR 220 023. NAVY department. Office of naval research. Washington, D.C. 1953. 21 p.
12. *Hinman R.L.* Base strengths of some alkylhydrazines. // J. Org. Chem. 1958. V. 23. № 10. P. 1587-1588.
13. *Condon F.E., Reece R.T., Shapiro D.G., Thakkar D.C., Goldstein T.B.* The influence of hydration on base strength. Part V. Hydrazines and oxyamines. Heats of solution and thermodynamics of ionization of the 20 methyl and ethyl substituted hydrazines. Isomerization equilibria for unsymmetrical hydrazinium ions. Substituent constants (σ^* values) for amino-groups. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2. 1974. № 10. P. 1112-1121.

14. *Rothgery E.F.* Hydrazine and its derivatives. / Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley & Sons, Inc. New York, 2004. P 562–607.
15. *Choudhary G., Hansen H., Donkin S.G., Kirman C.* Toxicological Profile for Hydrazines. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service, ATSDR, Atlanta, GA, 1997. 224 pp.
16. *Адушкин В.В., Козлов С.И., Петров А.В.* Экологические проблемы и риски воздействий ракетно-космической техники на окружающую природную среду. М: Анкил, 2000. 640 с.
17. Background document to the Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of daminozide (ISO). ECHA's Committee for Risk Assessment. 2020. 267 pp. (<https://echa.europa.eu/documents/10162/ed7ac890-bd32-4fb0-9524-ab99b9a58001>)
18. *Lovering E.G., Matsui F., Robertso, D., Curran N.M.* Determination of hydrazine in pharmaceuticals IV: hydrazine and benzylhydrazine in isocarboxazid. // J. Pharm. Sci. 1985. V. 74. №. 1. P. 105-107.
19. *Swietlińska Z., Zuk J.* Cytotoxic effects of maleic hydrazide. // Mutat. Res., Rev. Genet. Toxicol. 1978. V. 55. №. 1. P. 15-30.
20. *Najm I.; Brown N.P.; Guo Y.C.; Hwang C.J.; Barrett S.E.* Formation of Hydrazine as a Chloramine By-Product. / Research Project Completion Report, Project №. 2997. American Water Works Association Research Foundation, Denver, CO, 2006. P. 93-101.
21. Proposal for Identification of a Substance as a Category 1A or 1B CMR, PBT, vPvB or a Substance of an Equivalent Level of Concern. Hydrazine (EC № 206-114-9). European Chemicals Agency (ECHA). 2011. 152 pp. (https://echa.europa.eu/documents/10162/13640/svhc_axvrep_echa_cmr_hydrazine_en.pdf)
22. ICH guideline M7 (R1) on assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk. European Medicines Agency. 2017. 110 pp. (https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-m7r1-assessment-control-dna-reactive-mutagenic-impurities-pharmaceuticals-limit_en.pdf)
23. Methylhydrazine. Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level. ECHA's committee for Risk Assessment. 2015. 18 pp. (<https://echa.europa.eu/documents/10162/f04a7606-1100-0185-94b3-4491df0a83b3>)

24. 1,1-Dimethylhydrazine. Hazard Summary (CASRN 57-14-7). U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 1992. 4 pp. (<https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-09/documents/1-1-dimethylhydrazine.pdf>.)
25. Hydrazine. Hazard Summary (CAS 302-01-2). U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 1992. 4 pp. (<https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-09/documents/hydrazine.pdf>)
26. Methylhydrazine. Hazard Summary (CAS 60-34-4). U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 1992. 4 pp.
27. Code of Practice for the Chemical Agents and Carcinogens Regulations. Dublin.: Health and Safety Authority. 2021. 54 pp. (https://www.hsa.ie/eng/publications_and_forms/publications/chemical_and_hazardous_substances/2021-code-of-practice-for-the-chemical-agents-and-carcinogens-regulations.pdf)
28. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. / IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. V.71. Lyon: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. 1999. 1597 pp.
29. Hydrazine/Hydrazine sulfate (CAS 302-01-2). U.S. Environmental Protection Agency (EPA), IRIS 1988. 13 pp. (https://iris.epa.gov/static/pdfs/0352_summary.pdf)
30. Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities, Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), European Medicines Agency. 2006. 8 pp. (https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-limits-genotoxic-impurities_en.pdf)
31. *Choudhary G., Hansen H.* Human health perspective of environmental exposure to hydrazines: A review. // *Chemosphere*. 1998. V. 37. №. 5. P. 801-843.
32. СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания. 2021.
33. МинСелХоз приказ № 552. Об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения. 2016.
34. *Cook L., Glemm R.* Evaluation of atmospheric concentrations of hydrazine and unsymmetrical dimethylhydrazine in and around the Rocky Mountain Arsenal Hydrazine Facility. Denver, CO: Army Environmental Hygiene Agency Aberdeen Proving Ground. 1977. 21 pp (<https://apps.dtic.mil/sti/pdfs/ADA286332.pdf>)

35. Vernot E.H., Macewen J.D., Bruner R.H., Haun C.C., Kinkead E.R., Prentice D.E., Hall A., Schmidt R.E., Eason R.L., Hubbard G.B., Young J.T. Long-term inhalation toxicity of hydrazine. // *Fundam. Appl. Toxicol.* 1985. V. 5. №. 6. P. 1050-1064.
36. Latendresse J.R., Marit G.B., Vernot E.H., Haun C.C., Flemming C.D. Oncogenic potential of inhaled hydrazine in the nose of rats and hamsters after 1 or 10 1-hr exposures. // *Fundam. Appl. Toxicol.* 1995. V. 27. №. 1. P. 33-48.
37. Roe F.J. C., Grant G.A., Millican D.M. Carcinogenicity of hydrazine and 1,1-dimethylhydrazine for mouse lung. // *Nature.* 1967. V. 216. №. 5113. P. 375-376.
38. Biancifiori C., Giornelli-Santilli F.E., Milia U., Severi L. Pulmonary tumours in rats induced by oral hydrazine sulphate. // *Nature.* 1966. V. 212. №. 5060. P. 414-415.
39. Matsumoto M., Kano H., Suzuki M., Katagiri T., Umeda Y., Fukushima S. Carcinogenicity and chronic toxicity of hydrazine monohydrate in rats and mice by two-year drinking water treatment. // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2016. V. 76. P. 63-73.
40. Smith E.B., Clark D.A. Absorption of hydrazine through canine skin. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1972. V. 21. №. 2. P. 186-193.
41. Smith E.B., Clark D.A. Absorption of unsymmetrical dimethylhydrazine (UDMH) through canine skin. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1971. V. 18. №. 3. P. 649-659.
42. Stein E.R., Clark D.A., Fortney S.R. Inhibition of glutamic-oxaloacetic transaminases of rat liver by hydrazine. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1971. V. 18. №. 2. P. 274-284.
43. Cornish H.H. The role of vitamin B 6 in the toxicity of hydrazines. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1969. V. 166. №. 1. P. 136-145.
44. Rogers A.M., Back K.C. Comparative mutagenicity of hydrazine and 3 methylated derivatives in L5178Y mouse lymphoma cells. // *Mutat. Res., Genet. Toxicol.* 1981. V. 89. №. 4. P. 321-328.
45. Mori H., Sugie S., Yoshime N., Iwata H., Nishikawa A., Matsukubo K., Shimizu H., Hirono I. Genotoxicity of a variety of hydrazine derivatives in the hepatocyte primary culture/DNA repair test using rat and mouse hepatocytes. // *Jpn. J. Cancer Res.* 1988. V. 79. №. 2. P. 204-211.
46. Parodi S. De Flora S., Cavanna M., Pino A., Robbiano L., Bennicelli C., Brambilla G. DNA-damaging activity in vivo and bacterial mutagenicity of sixteen hydrazine derivatives as related quantitatively to their carcinogenicity. // *Cancer Res.* 1981. V. 41. №. 4. P. 1469-1482.

47. *Poso A., von Wright A., Gynther J.* An empirical and theoretical study on mechanisms of mutagenic activity of hydrazine compounds. // *Mutat. Res., Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 1995. V. 332. №. 1-2. P. 63-71.
48. *Atkinson R., Carter W.P.L.* Kinetics and mechanisms of the gas-phase reactions of ozone with organic compounds under atmospheric conditions. // *Chem. Rev.* 1984. V. 84. №. 5. P. 437-470.
49. *Stone D.A.* Atmospheric chemistry of propellant vapors. // *Toxicol. Lett.* 1989. V. 49. №. 2-3. P. 349-360.
50. *Шкаева И.Е., Радилев А.С., Дулов С.А., Николаев А.И., Кузнецова Т.А., Никулина О.С., Хрусталева В.С., Антонов Ю.П., Барышева О.В.* Обоснование гигиенического стандарта безопасности (ПДК) несимметричного диметилгидразина в почве. // *Мир науки, культуры, образования.* 2010. № 5 (24). С. 267-271.
51. Environmental health criteria 68: Hydrazine. Geneva: World Health Organization. 1987. 68 pp. (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/39600/9241542683-eng.pdf>)
52. *Lunne G., Sansone E.* Oxidation of 1,1-dimethylhydrazine (UDMH) in aqueous solution with air and hydrogen peroxide. // *Chemosphere.* 1994. V. 29. №. 7. P. 1577-1590.
53. *Isaacson P.J., Hayes M.H.B.* The interaction of hydrazine hydrate with humic acid preparations at pH 4. // *J. Soil Sci.* 1984. V. 35. №. 1. P. 79-92.
54. *McAdam K., Kimpton H., Essen S., Davis P., Vas C., Wright C., Porter A. Rodu B.* Analysis of hydrazine in smokeless tobacco products by gas chromatography–mass spectrometry. // *Chem. Cent. J.* 2015. V. 9. №. 1. P. 1-12.
55. *Newsome W.H.* Determination of daminozide residues on foods and its degradation to 1,1-dimethylhydrazine by cooking. // *J. Agric. Food Chem.* 1980. V. 28. №. 2. P. 319-321.
56. *Rodin I.A., Smirnov R.S., Smolenkov A.D., Krechetov P.P., Shpigun O.A.* Transformation of unsymmetrical dimethylhydrazine in soils. // *Eurasian Soil Sci.* 2012. V. 45. №. 4. P. 386-391.
57. *Kenessov B., Alimzhanova M., Sailaukhanuly Y., Baimatova N., Abilev M., Batyrbekova S., Carlsen L., Tulegenov A., Nauryzbayev M.* Transformation products of 1,1-dimethylhydrazine and their distribution in soils of fall places of rocket carriers in Central Kazakhstan. // *Sci. Total Environ.* 2012. V. 427. P. 78-85.

58. *Ul'yanovskii N.V., Kosyakov D.S., Pikovskoi I.I., Khabarov Y.G.* Characterisation of oxidation products of 1, 1-dimethylhydrazine by high-resolution orbitrap mass spectrometry. // *Chemosphere*. 2017. V. 174. P. 66-75.
59. *Майстренко В.Н., Хамитов Р.З., Будников Г.К.* Эколого-аналитический мониторинг суперэкоотоксикантов. М.: Химия, 1996. 319 с.
60. *Mitch W.A., Sharp J.O., Trussell R.R., Valentine R.L., Alvarez-Cohen L., Sedlak D.L.* N-nitrosodimethylamine (NDMA) as a drinking water contaminant: a review. // *Environ. Eng. Sci.* 2003. V. 20. №. 5. P. 389-404.
61. *Carlsen L., Kenessov B.N., Batyrbekova S.Ye.* A QSAR/QSTR study on the environmental health impact by the rocket fuel 1,1-dimethyl hydrazine and its transformation products. // *Environ. Health Insights*. 2008. № 1. P. 11-20.
62. *Carlsen L., Kenessov B., Batyrbekova S.Ye.* A QSAR/QSTR study on the human health impact by the rocket fuel 1,1-dimethylhydrazine and its transformation products. // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2009. V. 27. P. 415-423.
63. *Смоленков А.Д., Родин И.А., Шпигун О.А.* Спектрофотометрические и флуориметрические методы определения гидразина и его метилированных аналогов. // *Журн. аналит. химии*. 2012. Т. 67. №. 2. С. 133-149.
64. *Alexandrov A., Vassiléva-Alexandrova P., Kovatcheva E.* Le chlorure de triphényltétrazolium comme réactif en chimie analytique. VII. Détermination de l'hydrazine par oxydo-réduction. // *Mikrochim. Acta [Wien]*. 1968. № 5. P. 1007-1012.
65. *Hassan S.S.M.* Spectrophotometric determination of hydrazines with perinaphthindan-2,3,4-trione hydrate. // *Microchim. Acta*. 1974. V. 62. №. 1. P. 51-57.
66. *Besada A.* A simple spectrophotometric method for the determination of hydrazine salts by reaction with phosphomolybdic acid. // *Microchim. Acta*. 1985. V. 87. №. 5. P. 343-346.
67. NIOSH Method 3510. Determination of methylhydrazine by visible spectrophotometry. NIOSH Manual of Analytical Methods. 4th ed. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1994. 3 pp. (<https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/3510.pdf>)
68. NIOSH Method 3515. Determination of 1,1-dimethylhydrazine by visible spectrophotometry. NIOSH Manual of Analytical Methods. 4th ed. Washington, DC: U.S.

Government Printing Office. 1994. 3 pp. (<https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/3515.pdf>)

69. *Dias F., Olojola A.S., Jaselskis B.* Spectrophotometric determination of micro amounts of hydrazine and hydroxylamine alone and in the presence of each other. // *Talanta*. 1979. V. 26. №. 1. P. 47-49.

70. *El-Brashy A.M., Ibrahim F.A., El-Ashry S.M.* Colorimetric determination of some important hydrazine derivatives. // *Mikrochim. Acta [Wien]*. 1991. V. 105. №. 3. P. 105-110.

71. *Besada A.* Analytical use of copper (II)-neocuproine in the spectrophotometric determination of hydrazines. // *Anal. Lett.* 1988. V. 21. №. 10. P. 1917-1925.

72. *Safavi A., Abdollahi H., Sedaghatpour F., Nezhad M.H.* Indirect simultaneous kinetic determination of semicarbazide and hydrazine in micellar media by H-point standard addition method. // *Talanta*. 2003. V. 59. №. 1. P. 147-153.

73. *Pal T., Maity D.S., Ganguly A.* Use of a silver-gelatin complex for the determination of micro-amounts of hydrazine in water. // *Analyst*. 1986. V. 111. №. 12. P. 1413-1415.

74. *Zarei A. R., Barghak F.* Application of the localized surface plasmon resonance of gold nanoparticles for the determination of 1, 1-dimethylhydrazine in water: toward green analytical chemistry. // *J. Anal. Chem.* 2017. V. 72. №. 4. P. 430-436.

75. *Yao X., Zhang G., Liu B., Xie Z., Wang X.* Direct detection of 1,1-dimethylhydrazine in water samples based on formation of gold nanoparticles. // *Mater. Res. Express*. 2019. V. 6. №. 6. P. 50-57.

76. *Pourreza N., Abdollahzadeh R.* Colorimetric determination of hydrazine and nitrite using catalytic effect of palladium nanoparticles on the reduction reaction of methylene blue. // *Microchem. J.* 2019. V. 150. P. 104067.

77. *Wang S., Du L., Zhang A., Liu D.* Kinetic spectrophotometric determination of hydrazine with neutral red-nitrite system. // *Mikrochim. Acta*. 2000. V. 134. №. 3. P. 167-170.

78. *George M., Nagaraja K.S., Balasubramanian N.* Spectrophotometric Determination of Hydrazine. // *Anal. Lett.* 2007. V. 40. №. 13. P. 2597-2605.

79. *Haji Shabani A.M., Dadfarnia S., Dehghan K.* Indirect spectrophotometric determination of trace quantities of hydrazine. // *Bull. Korean Chem. Soc.* 2004. V. 25. №. 2. P. 213-215.

80. *Pinkerton M.K., Lauer J.M., Diamond P., Tamas A.A.* A colorimetric determination for 1,1-dimethylhydrazine in air, blood and water. // *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.* 1963. V. 24. P. 239-244.
81. *Pinkerton M.K., Lauer J.M., Diamond P., Tamas A.A.* A colorimetric determination for 1,1-dimethylhydrazine in air, blood and water. ASD Technical Report 61-708. Dayton, OH: Aeronautical Systems Division, Wright-Patterson AFB. 1961. 10 pp.
82. *Pinkerton M.K., Thomas A.A.* Ultra micro procedure for UDMH in blood. AMRL Technical Documentary Report AMRL-TDR-62-120. Dayton, OH: Aerospace Medicine Research Laboratory, Wright-Patterson AFB. 1962. 4 pp.
83. *Diamond P., Thomas A.A.* Determination of 1,1-dimethylhydrazine (UDMH) in urine. AMRL Technical Documentary Report AMRL-TDR-62-119. Dayton, OH: Aerospace Medicine Research Laboratory, Wright-Patterson AFB. 1962. 15 pp.
84. *Riley J.P.* The spectrophotometric determination of hydrazine in dilute solutions. // *Analyst.* 1954. V. 79. №. 935. P. 76-81.
85. *Qi X.Y., Keyhani N.O., Lee Y.C.* Spectrophotometric determination of hydrazine, hydrazides, and their mixtures with trinitrobenzenesulfonic acid. // *Anal. Biochem.* 1988. V. 175. №. 1. P. 139-144.
86. *Subramanian S., Narayanasastri S., Reddy A.R.K.* Doping-induced detection and determination of propellant grade hydrazines by a kinetic spectrophotometric method based on nano and conventional polyaniline using halide ion releasing additives. // *RSC Adv.* 2014. V. 4. №. 52. P. 27404-27413.
87. *Watt G.W., Chrisp J.D.* Spectrophotometric method for determination of hydrazine. // *Anal. Chem.* 1952. V. 24. №. 12. P. 2006-2008.
88. *Dambrauskas T., Cornish H.H.* A modified spectrophotometric method for the determination of hydrazine. // *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 1962. V. 23. №. 2. P. 151-156.
89. ASTM D1385-01. Standard Test Method for Hydrazine in Water. Conshohocken, PA: ASTM International. 2001. 3 p.
(<https://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/D1385-01.htm>)
90. *Novak M., Halatky J.* Determination of flow concentrations of hydrazine in waters of both the primary and secondary circuits of NPPs with VVER. // *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 1988. V. 126. №. 5. P. 337-344.

91. Davidson A.G. Assay of hydrazine in isoniazid and its formulations by difference spectrophotometry. // *Analyst*. 1982. V. 107. №. 1273. P. 422-427.
92. George M., Nagaraja K.S., Balasubramanian N. Spectrophotometric determination of hydrazine. // *Talanta*. 2008. V. 75. №. 1. P. 27-31.
93. Yatsimirsky A.K., Yatsimirskaya N.T., Kashina S.B. Micellar catalysis and product stabilization in hydrazone formation reactions and micellar-modified determination of hydrazine and phenylhydrazine. // *Anal. Chem.* 1994. V. 66. №. 14. P. 2232-2239.
94. Afkhami A., Zarei A.R. Simultaneous spectrophotometric determination of hydrazine and phenylhydrazine based on their condensation reactions with different aromatic aldehydes in micellar media using H-point standard addition method. // *Talanta*. 2004. V. 62. №. 3. P. 559-565.
95. Afkhami A., Zarei A.R. Simultaneous kinetic-spectrophotometric determination of hydrazine and acetylhydrazine in micellar media using the H-point standard addition method. // *Anal. Sci.* 2004. V. 20. №. 8. P. 1199-1203.
96. Zarei A.R. Cloud point formation based on mixed micelle in the presence of electrolyte for extraction, preconcentration, and spectrophotometric determination of trace amounts of hydrazine in water and biological samples. // *Anal. Biochem.* 2007. V. 369. №. 2. P. 161-167.
97. Ortega-Barrales P., Molina-Díaz A., Pascual-Reguera M.I., Capitán-Vallvey L.F. Solid-phase spectrophotometric determination of trace amounts of hydrazine at sub-ng ml⁻¹ level. // *Anal. Chim. Acta.* 1997. V. 353. №. 1. P. 115-122.
98. Wood P.R. Determination of maleic hydrazide residues in plant and animal tissue. // *Anal. Chem.* 1953. V. 25. №. 12. P. 1879-1883.
99. El-Brashy A.M., El-Hussein L.A. Colorimetric determination of some important hydrazine derivatives. // *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Chem.* 1997. V. 30. №. 3. P. 609-622.
100. МУК 4.1.003-13 Методика измерений массовой концентрации 1,1-диметилгидразина в крови спектрофотометрическим методом. Методические указания по методам контроля. 2013.
101. Khuhawar M.Y., Almani K.F., Rind F.M.A. Spectrophotometric determination of isoniazid using 6-methyl-2-pyridine carboxaldehyde as a derivatizing reagent. // *Jour. Chem. Soc. Pak.* 1998. V. 20. №. 4. P. 260-263.

102. *Amlathe S., Gupta V.K.* Spectrophotometric determination of trace amounts of hydrazine in polluted water. // *Analyst*. 1988. V. 113. №. 9. P. 1481-1483.
103. *Kaveeshwar R., Gupta V.K.* A new spectrophotometric method for the determination of hydrazine in environmental samples. // *Fresenius' J. Anal. Chem.* 1992. V. 344. №. 3. P. 114-117.
104. *Bailey L.C., Medwick T.* Spectrophotometric determination of hydrazine and 1, 1-dimethylhydrazine, separately or in admixture. // *Anal. Chim. Acta*. 1966. V. 35. P. 330-336.
105. *Manes J., Campillos P., Font G., Martre H., Prognon P.* Extraction-spectrophotometric determination of hydrazine with 2-hydroxy-1-naphthaldehyde. // *Analyst*. 1987. V. 112. №. 8. P. 1183-1184.
106. *Косяков Д.С., Амосов А.С., Ульяновский Н.В., Ладесов А.В., Хабаров Ю.Г., Шнигун О.А.* Спектрофотометрическое определение гидразина, метилгидразина и 1, 1-диметилгидразина с предварительной дериватизацией 5-нитро-2-фуральдегидом. // *Журн. аналит. химии*. 2017. V. 72. №. 2. P. 145-152.
107. *Bunnett J.F., Zahler R.E.* Aromatic Nucleophilic Substitution Reactions. // *Chem. Rev.* 1951. V. 49. №. 2. P. 273-412.
108. *Fan J., Kong J., Feng S., Wang J., Peng P.* Kinetic fluorimetric determination of trace hydrazine in environmental waters. // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2006. V. 86. №. 13. P. 995-1005.
109. *Vickers S., Stuart E.K.* Simple, sensitive spectrophotofluorometric method for hydrazine in plasma. // *Anal. Chem.* 1974. V. 46. №. 1. P. 138-139.
110. *Темердашев З.А., Киселева Н.В., Струков В.Ю., Коншин В.В.* Влияние свойств альдегидов на аналитические характеристики определения НДМГ в форме его гидразонов. // *Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки*. 2006. № S10. С. 33-40.
111. *Chen X., Xiang Y., Li Z., Tong A.* Sensitive and selective fluorescence determination of trace hydrazine in aqueous solution utilizing 5-chlorosalicylaldehyde. // *Anal. Chim. Acta*. 2008. V. 625. №. 1. P. 41-46.
112. *Manes J., Gimeno M.J., Molto J.C., Font G.* Fluorimetric determination of hydrazine in isoniazid formulations with 2-hydroxy-1-naphthaldehyde. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1988. V. 6. №. 6-8. P. 1023-1027.

113. *Danielson N.D., Conroy C.M.* Fluorometric determination of hydrazine and ammonia separately or in mixtures. // *Talanta*. 1982. V. 29. №. 5. P. 401-404.
114. *Collins G.E., Rose-Pehrsson S.L.* Sensitive, fluorescent detection of hydrazine via derivatization with 2,3-naphthalene dicarboxaldehyde. // *Anal. Chim. Acta*. 1993. V. 284. №. 1. P. 207-215.
115. *Collins G.E., Rose-Pehrsson S.L.* Fluorescent detection of hydrazine, monomethylhydrazine, and 1,1-dimethylhydrazine by derivatization with aromatic dicarbaldehydes. // *Analyst*. 1994. V. 119. №. 8. P. 1907-1913.
116. *Roy B., Bandyopadhyay S.* The design strategies and mechanisms of fluorogenic and chromogenic probes for the detection of hydrazine. // *Anal. Methods*. 2018. V. 10. №. 10. P. 1117-1139.
117. *Afsharas A., Tsyurulneva I., Zaporozhets O.* Spectroscopic, visual test techniques and optical sensors for determination of hydrazine and its derivatives. // *Methods Objects Chem. Anal.* 2015. №. 10. № 3. P. 97-107.
118. *Nguyen K.H., Hao Y., Chen W., Zhang Y., Xu M., Yang M., Liu Y.N.* Recent progress in the development of fluorescent probes for hydrazine. // *Luminescence*. 2018. V. 33. №. 5. P. 816-836.
119. *Manna S.K., Gangopadhyay A., Maiti K., Mondal S., Mahapatra A.K.* Recent developments in fluorometric and colorimetric chemodosimeters targeted towards hydrazine sensing: present success and future possibilities. // *ChemistrySelect*. 2019. V. 4. №. 24. P. 7219-7245.
120. *Zhang X. Y., Yang Y.S., Wang W., Jiao Q.C., Zhu H.L.* Fluorescent sensors for the detection of hydrazine in environmental and biological systems: Recent advances and future prospects. // *Coord. Chem. Rev.* 2020. V. 417. P. 213367.
121. *Qu P., Ma X., Chen W., Zhu D., Bai H., Wei X., Chen S., Xu M.* A coumarin-based fluorescent probe for ratiometric detection of hydrazine and its application in living cells. // *Spectrochim. Acta, Part A*. 2019. V. 210. P. 381-386.
122. *Chen S., Hou P., Wang J., Liu L., Zhang Q.* A highly selective fluorescent probe based on coumarin for the imaging of N₂H₄ in living cells. // *Spectrochim. Acta, Part A*. 2017. V. 173. P. 170-174.
123. *Tiensomjittr K., Noorat R., Chomngam S., Wechakorn K., Prabpai S., Kanjanasirirat P. Pewkliang Y., Borwornpinyo S., Kongsaree P.* A chromogenic and fluorogenic rhodol-

- based chemosensor for hydrazine detection and its application in live cell bioimaging. // *Spectrochim. Acta, Part A*. 2018. V. 195. P. 136-141.
124. *Cui L., Peng Z., Ji C., Huang J., Huang D., Ma J., Zhang S., Qian X., Xu Y.* Hydrazine detection in the gas state and aqueous solution based on the Gabriel mechanism and its imaging in living cells. // *Chem. Commun.* 2014. V. 50. №. 12. P. 1485-1487.
125. *Jiang X., Lu Z., Shanguan M., Yi S., Zeng X., Zhang Y., Hou L.* A fluorescence "turn-on" sensor for detecting hydrazine in environment. // *Microchem. J.* 2020. V. 152. P. 104376.
126. *Kumar A., Asthana S.K., Prakash A., Roy J.K., Tiwari I., Upadhyay K.K.* A highly sensitive naphthaoxazole-based cell-permeable ratiometric chemodosimeter for hydrazine. // *RSC Adv.* 2016. V. 6. №. 97. P. 94959-94966.
127. *Li Z., Zhang W., Liu C., Yu M., Zhang H., Guo L., Wei L.* A colorimetric and ratiometric fluorescent probe for hydrazine and its application in living cells with low dark toxicity. // *Sens. Actuators, B.* 2017. V. 241. P. 665-671.
128. *Wang J.Y., Liu Z.R., Ren M., Lin W.* 2-benzothiazoleacetonitrile based two-photon fluorescent probe for hydrazine and its bio-imaging and environmental applications. // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. №. 1. P. 1-8.
129. *Li, J., Cui, Y., Bi, C., Feng, S., Yu, F., Yuan, E., Xu S., Hu Z., Sub Q., Wei D., Yoon J.* Oligo (ethylene glycol)-functionalized ratiometric fluorescent probe for the detection of hydrazine in vitro and in vivo. // *Anal. Chem.* 2019. V. 91. №. 11. P. 7360-7365.
130. *Cui J., Gao G., Zhao H., Liu Y., Nie H., Zhang X.* A highly sensitive and selective fluorescent probe for N_2H_4 in air and living cells. // *New J. Chem.* 2017. V. 41. №. 20. P. 11891-11897.
131. *He Y., Li Z., Shi B., An Z., Yu M., Wei L., Ni Z.* A new near-infrared ratiometric fluorescent probe for hydrazine. // *RSC Adv.* 2017. V. 7. №. 41. P. 25634-25639.
132. *Goswami S., Das S., Aich K., Sarkar D., Mondal T. K.* A coumarin based chemodosimetric probe for ratiometric detection of hydrazine. // *Tetrahedron Lett.* 2014. V. 55. №. 16. P. 2695-2699.
133. *Roy B., Halder S., Guha A., Bandyopadhyay S.* Highly selective sub-ppm naked-eye detection of hydrazine with conjugated-1,3-diketo probes: imaging hydrazine in drosophila larvae. // *Anal. Chem.* 2017. V. 89. №. 19. P. 10625-10636.

134. Wu X., Li Y., Yang S., Tian H., Sun B. A multiple-detection-point fluorescent probe for the rapid detection of mercury (II), hydrazine and hydrogen sulphide. // *Dyes Pigm.* 2020. V. 174. P. 108056.
135. Wang M., Wang X., Li X., Yang Z., Guo Z., Zhang J., Ma J., Wei C. A coumarin-fused 'off-on' fluorescent probe for highly selective detection of hydrazine. // *Spectrochim. Acta, Part A.* 2020. V. 230. P. 118075.
136. Zhang Y., Huang Y., Yue Y., Chao J., Huo F., Yin C. A compact fluorescent probe based on o-phthalaldehyde for ultrasensitive detection of hydrazine in gas and solution phases. // *Sens. Actuators, B.* 2018. V. 273. P. 944-950.
137. Ghorai A., Mondal J., Bhattacharya S., Patra G.K. A 'chromogenic' and 'fluorogenic' bis-Schiff base sensor for rapid detection of hydrazine both in solution and vapour phases. // *Anal. Methods.* 2015. V. 7. №. 24. P. 10385-10393.
138. Cheng X., Zhang R., Cai X., Liu B. A reusable and naked-eye molecular probe with aggregation-induced emission (AIE) characteristics for hydrazine detection. // *J. Mater. Chem. B.* 2017. V. 5. №. 19. P. 3565-3571.
139. Trojanowicz M., Kołacińska K. Recent advances in flow injection analysis. // *Analyst.* 2016. V. 141. №. 7. P. 2085-2139.
140. Ensafi A.A., Chamjangali M.A. Flow injection spectrophotometric determination of trace amounts of hydrazine by the inhibition of the pyrogallol red-iodate reaction. // *J. Anal. Chem.* 2004. V. 59. №. 2. P. 129-133.
141. Ensafi A.A., Naderi B. Flow-injection spectrophotometric determination of hydrazine. // *Microchem. J.* 1997. V. 56. №. 3. P. 269-275.
142. Basson W.D., Van Staden J.F. Low-level determination of hydrazine in boiler feed water with an unsegmented high-speed continuous-flow system. // *Analyst.* 1978. V. 103. №. 1230. P. 998-1001.
143. Balconi M.L., Sigon F., Borgarello M., Ferraroli R., Realini F. Flow-injection analysis for power plants: Evaluation of detectors for the determination of control parameters in conditioned water-steam cycles. // *Anal. Chim. Acta.* 1990. V. 234. P. 167-173.
144. Velavendan P., Pandey S., Pandey N., Mudali U., Natarajan R. Flow injection analysis of hydrazine in the aqueous streams of purex process by liquid chromatography

system coupled with UV-visible detector. // *J. Anal. Sci., Meth. & Instr.* 2012. V. 2. № 3. P. 156-160.

145. *Yu L., Zhang X.S., Yu L.Y.* Flow injection spectrophotometric determination of hydrazine in environmental water samples. // *Adv. Mater. Res.* 2012. V. 396. P. 130-133.

146. *Choudhry K.I., Svishchev I.M., Plugatyr A.* Split-flow Taylor dispersion technique for diffusivity and concentration measurements of hydrazine in aqueous solution. // *Can. J. Chem.* 2014. V. 92. №. 4. P. 279-283.

147. *Evgen'yev M.I., Garmonov S.Y., Evgen'yeva I.I., Budnikov H.C.* Determination of hydrazine derivatives by flow-injection analysis with spectrophotometric detection. // *Talanta.* 1995. V. 42. №. 10. P. 1465-1469.

148. *Faizullah A.T., Townshend A.* Flow injection analysis with chemiluminescence detection: determination of hydrazine. // *Anal. Proc.* 1985. V. 22. №. 1. P. 15-27.

149. *Collins G.E., Lattuner S., Rose-Pehrsson S.L.* Chemiluminescence detection of hydrazine vapor. // *Talanta.* 1995. V. 42. №. 4. P. 543-551.

150. *Safavi A., Absalan G., Bamdad F.* Effect of gold nanoparticle as a novel nanocatalyst on luminol–hydrazine chemiluminescence system and its analytical application. // *Anal. Chim. Acta.* 2008. V. 610. №. 2. P. 243-248.

151. *Li B., Zhang Z., Zheng X., Xu C.* Flow-injection chemiluminescence determination of hydrazine using on-line electrogenerated BrO^- as the oxidant. // *Chem. Anal.* 2000. V. 45. №. 5. P. 709-717.

152. *Lv J., Huang Y., Zhang Z.* Determination of hydrazine by flow injection with chemiluminescence. // *Anal. Lett.* 2001. V. 34. I. 8. P. 1323–1330.

153. *Safavi A., Karimi M.A.* Flow injection chemiluminescence determination of hydrazine by oxidation with chlorinated isocyanurates. // *Talanta.* 2002. V. 58. №. 4. P. 785-792.

154. *Safavi A., Baezzat M.R.* Flow injection chemiluminescence determination of hydrazine. // *Anal. Chim. Acta.* 1998. V. 358. №. 2. P. 121-125.

155. *Zheng X., Zhang Z., Guo Z., Wang Q.* Flow-injection electrogenerated chemiluminescence detection of hydrazine based on its in-situ electrochemical modification at a pre-anodized platinum electrode. // *Analyst.* 2002. V. 127. №. 10. P. 1375-1379.

156. *Zen J.M., Tang J.S.* Flow injection amperometric detection of hydrazine by electrocatalytic oxidation at a perfluorosulfonated ionomer/ruthenium oxide pyrochlore chemically modified electrode. // *Anal. Chem.* 1995. V. 67. №. 1. P. 208-211.
157. *Barathi P., Kumar A.S.* Quercetin tethered pristine-multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrode as an efficient electrochemical detector for flow injection analysis of hydrazine in cigarette tobacco samples. // *Electrochim. Acta.* 2014. V. 135. P. 1-10.
158. *Channon R.B., Joseph M.B., Bitziou E., Bristow A.W., Ray A.D., Macpherson J.V.* Electrochemical flow injection analysis of hydrazine in an excess of an active pharmaceutical ingredient: achieving pharmaceutical detection limits electrochemically. // *Anal. Chem.* 2015. V. 87. №. 19. P. 10064-10071.
159. *Ayaz S., Dilgin Y., Apak R.* Flow injection amperometric determination of hydrazine at a cupric-neocuproine complex/anionic surfactant modified disposable electrode. // *Microchem. J.* 2020. V. 159. P. 105457.
160. *Ayaz S., Dilgin Y.* Flow injection amperometric determination of hydrazine based on its electrocatalytic oxidation at pyrocatechol violet modified pencil graphite electrode. // *Electrochim. Acta.* 2017. V. 258. P. 1086-1095.
161. *Teoman İ., Karakaya S., Dilgin Y.* Sensitive and rapid flow injection amperometric hydrazine sensor using an electrodeposited gold nanoparticle graphite pencil electrode. // *Anal. Lett.* 2019. V. 52. №. 13. P. 2041-2056.
162. *Смоленков А.Д.* Хроматографические методы определения гидразина и его полярных производных. // *Обзор. журн. по химии.* 2012. Т. 2. №. 4. С. 334-334.
163. *McNair H.M., Miller J.M.* Basic gas chromatography. 2nd Ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc 2009. 239 pp.
164. *Mach M.H., Baumgartner A.M.* Oxidation of aqueous unsymmetrical dimethylhydrazine by calcium hypochlorite or hydrogen peroxide/copper sulfate. // *Anal. Lett.* 1979. V. 12. №. 9. P. 1063-1074.
165. *Ismagilov Z.R., Kerzhentsev M.A., Ismagilov I.Z., Sazonov V.A., Parmon V.N., Elizarova G.L., Pestunova O.P., Shandakov V.A., Zuev Yu.L, Eryomin V.N., Pestereva N.V., Garin F., Veringa H.J.* Oxidation of unsymmetrical dimethylhydrazine over heterogeneous catalysts: Solution of environmental problems of production, storage and disposal of highly toxic rocket fuels. // *Catal. Today.* 2002. V. 75. №. 1-4. P. 277-285.

166. *Pestunova O.P., Elizarova G.L., Ismagilov Z.R., Kerzhentsev M.A., Parmon, V.N.* Detoxication of water containing 1,1-dimethylhydrazine by catalytic oxidation with dioxygen and hydrogen peroxide over Cu-and Fe-containing catalysts. // *Catal. Today*. 2002. V. 75. №. 1-4. P. 219-225.
167. *Mathur M.A., Sisler H.H.* Oxidation of 1,1-dimethylhydrazine by oxygen. // *Inorg. Chem*. 1981. V. 20. №. 2. P. 426-429.
168. *Кенесов Б.Н.* Идентификация летучих продуктов трансформации несимметричного диметилгидразина в почвах методом парофазного извлечения в сочетании с хромато-масс-спектрометрией. // *Изв. НАН РК. Сер. хим.* 2008. №. 5. С. 371.
169. *Родин И.А., Москвин Д.Н., Смоленков А.Д., Шнигун О.А.* Превращения несимметричного диметилгидразина в почвах. // *Журн. физ. химии*. 2008. Т. 82. № 6. С. 1039-1044.
170. *Sternson L.A.*, 1981. General aspects of precolumn derivatization with emphasis on pharmaceutical analysis. / *Frei R.W., Lawrence J.F.* (Eds.), *Chemical Derivatization in Analytical Chemistry: Chromatography*. 1st ed. New York: Springer. P. 127–210.
171. *Dee L.A.* Gas chromatographic determination of aqueous trace hydrazine and methylhydrazine as corresponding pyrazoles. // *Anal. Chem*. 1971. V. 43. №. 11. P. 1416-1419.
172. *Timbrell J.A., Wright J.M., Smith C.M.* Determination of hydrazine metabolites of isoniazid in human urine by gas chromatography. // *J. Chromatogr. A*. 1977. V. 138. №. 1. P. 165-172.
173. *Selim S., Warner C.R.* Residue determination of hydrazine in water by derivatization and gas chromatography. // *J. Chromatogr. A*. 1978. V. 166. №. 2. P. 507-511.
174. *Newsome W.H.* Residues of maleic hydrazide in field-treated potatoes. // *J. Agric. Food Chem*. 1980. V. 28. №. 6. P. 1312-1313.
175. *Mazur J.F., Podolak G.E., Heitke B.T.* Use of a GC concentrator to improve analysis of low levels of airborne hydrazine and unsymmetrical dimethylhydrazine. // *Am. Ind. Hyg. Assoc. J*. 1980. V. 41. №. 1. P. 66-69.
176. *Bakker H., Martijn A., Schreuder R.H.* Gas-liquid chromatographic determination of hydrazine in maleic hydrazide formulations and in samples stored at an elevated temperature. // *Pestic. Sci*. 1983. V. 14. №. 5. P. 470-474.

177. *Matsui F., Robertson D.L., Lovering E.G.* Determination of hydrazine in pharmaceuticals III: hydralazine and isoniazid using GLC. // *J. Pharm. Sci.* 1983. V. 72. №. 8. P. 948-951.
178. *Holtzclaw J.R., Rose S.L., Wyatt J.R., Rounbehler, D.P., Fine D.H.* Simultaneous determination of hydrazine, methylhydrazine, and 1,1-dimethylhydrazine in air by derivatization/gas chromatography. // *Anal. Chem.* 1984. V. 56. №. 14. P. 2952-2956.
179. *Wright D.* New method for the determination of 1,1-dimethylhydrazine residues in apples and peaches. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1987. V. 70. №. 4. P. 718-720.
180. *Suzuki T., Nemoto S., Saito Y.* Determination of a Plant Growth Regulator, Daminozide, and 1,1-Dimethylhydrazine in Fruits and Fruit Juice by Gas Chromatography. // *Food Hyg. Saf. Sci.* 1990. V. 31. №. 2. P. 177-181.
181. *Steinbrecher K., Saxton W.L., Oehler G.A.* Improved gas chromatographic method for determination of daminozide by alkaline hydrolysis and 2-nitrobenzaldehyde derivatization and survey results of daminozide in agricultural products. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1990. V. 73. №. 4. P. 512-515.
182. *Vatsala S., Bansal V., Tuli D.K., Rai M.M., Jain S.K., Srivastava S.P., Bhatnagar A.K.* Gas chromatographic determination of residual hydrazine and morpholine in boiler feed water and steam condensates. // *Chromatographia.* 1994. V. 38. №. 7-8. P. 456-460.
183. *Subramanian S., Narayanasastri S., Reddy A.R.K.* Single step derivatization with CF₃ enone of thiophene at ambient temperature to determine propellant grade hydrazines: A study by GC and GC-MS. // *Analyst.* 2015. V. 140. №. 1. P. 330-339.
184. *Vickers S., Stuart E.K., Hucker H.B., VandenHeuvel W.J.* Metabolism of carbidopa, (-)-L- α -hydrazino-3, 4-dihydroxy- α -methylbenzenepropanoic acid monohydrate, in the human, rhesus monkey, dog, and rat. // *J. Med. Chem.* 1975. V. 18. №. 2. P. 134-138.
185. *Mozayani A., Coutts R.T., Danielson T.J.* Gas chromatographic analysis of monoalkylhydrazines. // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.* 1987. V. 423. P. 131-137.
186. *Karlaganis G., Peretti E., Lauterburg B.H.* Analysis of isoniazid, acetylhydrazine and [¹⁵N₂] acetylhydrazine in serum by capillary gas chromatography-ammonia chemical ionization mass spectrometry. // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.* 1987. V. 420. P. 171-177.

187. *Newsome W.H., Collins P.* An Improved Method for the Determination of 1,1-Dimethyl Hydrazine in Apple and Cherry Products. // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 1988. V. 34. №. 2. P. 155-166.
188. *Conditt M.K., Baumgardner J.R., Hellmann L.M.* Gas chromatographic/mass spectrometric determination of daminozide in high protein food products. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1988. V. 71. №. 4. P. 735-739.
189. *Faughnan K.T., Woodruff M.A.* Modified gas chromatographic/mass spectrometric method for determination of daminozide in high protein food products. // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1991. V. 74. №. 4. P. 682-692.
190. *Rutschmann M.A., Buser H.R.* Determination of daminozide and dimethylhydrazine residues in Swiss apple juice concentrates using gas chromatography-mass spectrometry. // *J. Agric. Food Chem.* 1991. V. 39. №. 1. P. 176-181.
191. *Majumdar T.K., Geno P.W., Yau A.* Determination of daminozide residues at very low levels in fruits by gas chromatography/mass spectrometry. // *J. Agric. Food Chem.* 1995. V. 43. №. 6. P. 1421-1423.
192. *Brinkman J.H.W., van Dijk A.G., Wagenaar R., Quirijns, J.K.* Determination of daminozide residues in apples using gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. // *J. Chromatogr. A.* 1996. V. 723. №. 2. P. 355-360.
193. *Gyllenhaal O., Grönberg L., Vessman J.* Determination of hydrazine in hydralazine by capillary gas chromatography with nitrogen-selective detection after benzaldehyde derivatization. // *J. Chromatogr. A.* 1990. V. 511. P. 303-315.
194. *Carlin A., Gregory N., Simmons J.* Stability of isoniazid in isoniazid syrup: formation of hydrazine. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1998. V. 17. №. 4-5. P. 885-890.
195. *Preece N.E., Forrow S., Ghatineh S., Langley G.J., Timbrell J.A.* Determination of hydrazine in biofluids by capillary gas chromatography with nitrogen-sensitive or mass spectrometric detection. // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl.* 1992. V. 573. №. 2. P. 227-234.
196. РД 52.18.579-97. Методические указания. Концентрация несимметричного диметилгидразина в пробах поверхностной грунтовой, питьевой воды и почвы. Методика выполнения измерений методом хромато-масс-спектрометрии. 1997.
197. МУК 4.1.1211-03. Газохроматографическое определение несимметричного диметилгидразина в воде. 2003.

198. Сотников Е.Е., Московкин А.С. Газохроматографическое определение несимметричного диметилгидразина в воде. // Журн. аналит. химии. 2006. Т. 61. №. 2. С. 139-142.
199. МУК 4.1.2146-06. Методические указания по газохроматографическому определению концентраций 1,1 диметилгидразина в почве. 2006.
200. ПНД Ф 14.1:2.4.191-03. Методика выполнения измерений массовой концентрации гидразина в пробах питьевых, природных и сточных вод газохроматографическим методом. 2003.
201. Cathum S., Atamaniouk V., Ananieva L., Ladanowski C., Whittaker H. Gas chromatography–mass spectrometric determination of unsymdimethylhydrazine in soil and water by derivatization with aromatic aldehydes. // Can. J. Chem. Eng. 1998. V. 76. №. 3. P. 680-685.
202. Arshadi M., Nilsson C., Magnusson B. Gas chromatography–mass spectrometry determination of the pentafluorobenzoyl derivative of methylhydrazine in false morel (*Gyromitra esculenta*) as a monitor for the content of the toxin gyromitrin. // J. Chromatogr. A. 2006. V. 1125. №. 2. P. 229-233.
203. Khuhawar M.Y., Zardari L.A. Ethyl chloroformate as a derivatizing reagent for the gas chromatographic determination of isoniazid and hydrazine in pharmaceutical preparations. // Anal. Sci. 2008. V. 24. №. 11. P. 1493-1496.
204. Khuhawar M.Y., Zardari L.A. Capillary gas chromatographic determination of isoniazid in pharmaceutical preparations and blood by precolumn derivatization with trifluoroacetylacetone. // J. Food Drug Anal. 2006. V. 14. №. 4. С. 323-328.
205. Fortin D.T., Chen R. Developing a trace level GC-MS method for detecting methylhydrazine in an experimental drug substance. // J. Chromatogr. Sci. 2010. V. 48. №. 4. P. 299-302.
206. Парамонов С.А., Ульянов А.В., Буряк А.К. Изотиоцианаты как дериватизирующие реагенты при анализе 1, 1-диметилгидразина методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии. // Изв. АН. Сер. хим. 2010. №. 3. С. 517-517.
207. Oh J.A., Park J.H., Shin H.S. Sensitive determination of hydrazine in water by gas chromatography–mass spectrometry after derivatization with ortho-phthalaldehyde. // Anal. Chim. Acta. 2013. V. 769. P. 79-83.

208. *Sun M., Bai L., Liu D.Q.* A generic approach for the determination of trace hydrazine in drug substances using in situ derivatization-headspace GC-MS. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2009. V. 49. №. 2. P. 529-533.
209. *Абилев М.Б., Кенесов Б.Н., Батырбекова С.Е.* Газохроматографическое определение 1,1-диметилгидразина в образцах воды методом твердофазной микроэкстракции с дериватизацией. // *Вестн. КазНУ. Сер хим.* 2014. Т. 75. №. 3. С. 91-102.
210. *Davis, II W.E., Li Y.* Analysis of hydrazine in drinking water by isotope dilution gas chromatography/tandem mass spectrometry with derivatization and liquid-liquid extraction. // *Anal. Chem.* 2008. V. 80. №. 14. P. 5449-5453.
211. *Gionfriddo E., Naccarato A., Sindona G., Tagarelli A.* Determination of hydrazine in drinking water: Development and multivariate optimization of a rapid and simple solid phase microextraction-gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry protocol. // *Anal. Chim. Acta.* 2014. V. 835. P. 37-45.
212. *Oh J.A., Shin H.S.* Simple determination of hydrazine in waste water by headspace solid-phase micro extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry after derivatization with trifluoro pentanedione. // *Anal. Chim. Acta.* 2017. V. 950. P. 57-63.
213. *Snyder L.R., Kirkland J.J., Dolan J.W.* Introduction to modern liquid chromatography. 3rd Ed. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 2010. 912 pp.
214. *Ravichandran K., Baldwin R.P.* Liquid chromatographic determination of hydrazines with electrochemically pretreated glassy carbon electrodes. // *Anal. Chem.* 1983. V. 55. №. 11. P. 1782-1786.
215. *Zhou J., Wang E.* Electrocatalytic oxidation and flow detection of hydrazine compounds in liquid chromatography at a vitamin B-12 adsorbed glassy carbon electrode. // *Electroanalysis.* 1992. V. 4. №. 4. P. 473-479.
216. *Zhou J., Wang E.* Electrocatalysis and determination of hydrazine compounds in liquid chromatography at a mixed-valent cobalt oxide/cyanocobaltate film electrode. // *Talanta.* 1993. V. 40. №. 6. P. 943-948.
217. *Fiala E.S., Kulakis C.* Separation of hydrazine, monomethylhydrazine, 1,1-dimethylhydrazine and 1,2-dimethylhydrazine by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. // *J. Chromatogr. A.* 1981. V. 214. №. 2. P. 229-233.

218. *Larson S.L., Strong A.B.* Ion chromatography with electrochemical detection for hydrazine quantitation in environmental samples. Technical Report IRRP-96-3. Vicksburg, MS: U.S.Army Engineer Waterways Experiment Station. 1996. 14 pp. (<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.942.3753&rep=rep1&type=pdf>)
219. *Jagota N.K., Chetram A.J., Nair J.B.* Determination of trace levels of hydrazine in the penultimate intermediate of a novel anti-infective agent. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1998. V. 16. №. 6. P. 1083-1087.
220. *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.
221. *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 for the investigation of unsymmetrical hydrazine degradation in soils. // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2005. V. 85. №. 14. P. 1089-1100.
222. *Смоленков А.Д., Смирнов Р.С., Родин И.А., Тамаурова 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.
223. *Jovanovic S.V., Zakharov T., Mulye H., Kim D., Fagan K.A.* Determination of hydrazine at Ontario nuclear power plants. // *Anal. Methods.* 2015. V. 7. №. 23. P. 9825-9834.
224. *Затираха А.В., Смоленков А.Д., Елфимова Я.А., Шпигун О.А.* Высококчувствительное ионохроматографическое определение 1,1-диметилгидразина. // *Сорбц. хромат. процессы.* 2009. Т. 9. №. 4. С. 545-556.
225. *Затираха А.В., Смоленков А.Д., Шпигун О.А.* Ионохроматографическое определение 1,1-диметилгидразина с сорбционным on-line концентрированием. // *Завод. лабор. Диагн. матер.* 2009. Т. 75. №. 4. С. 15-18.
226. *Zhou F., Ren X., Du S.* Direct evaluation of unsymmetrical dimethylhydrazine with wide concentration range in wastewater by ion chromatography. // *Chromatographia.* 2020. V. 83. №. 1. P. 107-113.

227. *Mori M., Tanaka K., Xu Q., Ikedo M., Taoda H., Hu W.* Highly sensitive determination of hydrazine ion by ion-exclusion chromatography with ion-exchange enhancement of conductivity detection. // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1039. №. 1-2. P. 135-139.
228. *Mori M., Itabashi H., Ikedo M., Tanaka K.* Ion-exclusion chromatography with the direct UV detection of non-absorbing inorganic cations using an anion-exchange conversion column in the iodide-form. // *Talanta.* 2006. V. 70. №. 1. P. 174-177.
229. *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.
230. *Liu M., Ostovic J., Chen E.X., Cauchon N.* Hydrophilic interaction liquid chromatography with alcohol as a weak eluent. // *J. Chromatogr. A.* 2009. V. 1216. №. 12. P. 2362-2370.
231. *Kosyakov D.S., Pikovskoi I.I., Ul'yanovskii N.V., Kozhevnikov A.Y.* Direct determination of hydrazine, methylhydrazine, and 1, 1-dimethylhydrazine by zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography with amperometric detection. // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2017. V. 97. №. 4. P. 313-329.
232. *Cohen R.D., Liu Y., Gong X.* Analysis of volatile bases by high performance liquid chromatography with aerosol-based detection. // *J. Chromatogr. A.* 2012. V. 1229. P. 172-179.
233. *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.
234. *Kosyakov D.S., Ul'yanovskii N.V., Bogolitsyn K.G., Shpigun O.A.* Simultaneous determination of 1,1-dimethylhydrazine and products of its oxidative transformations by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2014. V. 94. №. 12. P. 1254-1263.
235. *Ul'yanovskii N.V., Kosyakov D.S., Pikovskoi I.I., Shavrina I.S., Shpigun O.A.* Determination of 1,1-dimethylhydrazine and its transformation products in soil by

- zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography/tandem mass spectrometry. // *Chromatographia*. 2018. V. 81. №. 6. P. 891-900.
236. Смоленков А.Д., Родин И.А., Шнигун О.А. Определение 1,1-диметилгидразина методом нормально-фазовой ВЭЖХ. // *Сорбц. хромат. процессы*. 2006. Т. 6. №. 5. С. 787-795.
237. Andersson K., Hallgren C., Levin J.O., Nilsson C.A. Liquid chromatographic determination of hydrazine at sub-parts-per-million levels in workroom air as benzaldazine with the use of chemisorption on benzaldehyde-coated amberlite XAD-2. // *Anal. Chem.* 1984. V. 56. №. 9. P. 1730-1731.
238. Shustina R., Lesser J.H. Liquid chromatographic determination of hydrazine, carbohydrazide and thiocarbohydrazide in aqueous solutions. // *J. Chromatogr. A*. 1991. V. 464. P. 208-212.
239. Elias G., Bauer W.F. Hydrazine determination in sludge samples by high-performance liquid chromatography. // *J. Sep. Sci.* 2006. V. 29. №. 3. P. 460-464.
240. Tamás K., Wachter-Kiss E., Kormány R. Hydrazine determination in allopurinol using derivatization and SPE for sample preparation. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2018. V. 152. P. 25-30.
241. Cui L., Jiang K., Liu D.Q., Facchine K.L. Simultaneous quantitation of trace level hydrazine and acetohydrazide in pharmaceuticals by benzaldehyde derivatization with sample 'matrix matching' followed by liquid chromatography–mass spectrometry. // *J. Chromatogr. A*. 2016. V. 1462. P. 73-79.
242. Sharifi M., Donisa C., Joza P.A. Sensitive and quantitative isotope-dilution LC-MS/MS method for analysis of hydrazine in tobacco smoke. // *J. Chromatogr. Sci.* 2020. V. 58. №. 2. P. 83-90.
243. An Z., Li P., Zhang X., Liu L. Simultaneous determination of hydrazine, methylhydrazine, and 1,1-dimethylhydrazine in rat plasma by LC–MS/MS. // *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 2014. V. 37. №. 9. P. 1212-1225.
244. Денисов А.А., Смоленков А.Д., Шнигун О.А. Определение 1,1-диметилгидразина методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием в виде производного с 4-нитробензальдегидом. // *Журн. аналит. химии*. 2004. Т. 59. №. 5. С. 511-515.

245. *Li J., Joelle E.N.N., Yang Q., Zheng F., Liu W., Liu J.* Determination of residual phenylhydrazines in drug substances by high-performance liquid chromatography with pre-column derivatization. // *Anal. Methods*. 2019. V. 11. №. 48. P. 6146-6152.
246. *Abdou H.M., Medwick T., Bailey L.C.* The determination of hydrazine and 1,1-dimethylhydrazine, separately or in mixtures, by high-pressure liquid chromatography. // *Anal. Chim. Acta*. 1977. T. 93. C. 221-226.
247. *George G.D., Stewart J.T.* HPLC determination of trace hydrazine levels in phenelzine sulfate drug substance. // *Anal. Lett*. 1990. V. 23. №. 8. P. 1417-1429.
248. *Gudlavalleti S.K., Leas D.A., Reddy J.R.* UPLC Determination of process impurity hydrazine in Neisseria meningitidis A/C/Y/W-135-DT Conjugate Vaccine Formulated in Isotonic Aqueous 1x PBS. // *J. Pharm. Pharm. Sci*. 2015. V 1. № 2. P 12-16.
249. *Gopireddy R.R., Maruthapillai A., Selvi J.A., Mahapatra S.* Determination of potential genotoxic impurity hydrazine hydrate in ibrutinib by RP-liquid chromatography. // *Mater. Today: Proc*. 2021. V. 34. P. 430-436.
250. *Bicchi C., Cordero C., Rubiolo P., Occelli A.* Determination of daminozide residues in apple pulp using HPLC–DAD-UV. // *J. Agric. Food Chem*. 2001. V. 49. №. 8. P. 3548-3552.
251. *Walubo A., Smith P., Folb P.I.* Comprehensive assay for pyrazinamide, rifampicin and isoniazid with its hydrazine metabolites in human plasma by column liquid chromatography. // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl*. 1994. V. 658. №. 2. P. 391-396.
252. *Kester P.E., Danielson N.D.* Determination of hydrazine and 1, 1-dimethylhydrazine as salicyldehyde derivatives by liquid chromatography with electrochemical detection. // *Chromatographia*. 1984. V. 18. №. 3. P. 125-128.
253. *Kirchherr H.* Determination of hydrazine in human plasma by high-performance liquid chromatography. // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl*. 1993. V. 617. №. 1. P. 157-162.
254. *Isenberg S.L., Carter M.D., Crow B.S., Graham L.A., Johnson D., Beninato N., Steele K., Thomas J.D., Johnson R.C.* Quantification of Hydrazine in Human Urine by HPLC–MS-MS. // *J. Anal. Toxicol*. 2016. V. 40. №. 4. P. 248-254.
255. *Seifart H.I., Gent W.L. Parkin D.P., Van Jaarsveld P.P., Donald P.R.* High performance liquid chromatographic determination of isoniazid, acetylisoniazid and hydrazine in biological fluids. // *J. Chromatogr. B*. 1995. V. 674 №. 2. P. 269-275.

256. *Song L., Gao D., Li S., Wang Y., Liu H., Jiang Y.* Simultaneous quantitation of hydrazine and acetylhydrazine in human plasma by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry after derivatization with p-tolualdehyde. // *J. Chromatogr. B.* 2017. V. 1063. P. 189-195.
257. *Khuhawar M.Y., Rind F.M.* High performance liquid chromatographic determination of isoniazid, pyrazinamide and rifampicin in pharmaceutical preparations. // *Pak. J. Pharm. Sci.* 1998. V. 11. №. 2. P. 49-54.
258. *Khuhawar M.Y., Rind F.M.A., Rajper A.D.* High-performance liquid chromatographic determination of isoniazid, pyrazinamide, and indomethacin in pharmaceutical preparations. // *Acta Chromatogr.* 2005. №. 15. P. 269-275.
259. *Амосов А.С., Ульяновский Н.В., Косяков Д.С., Шпигун О.А.* Одновременное определение гидразина, метилгидразина и 1,1-диметилгидразина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с пред-и постколоночной дериватизацией 5-нитро-2-фуральдегидом. // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73. №. 5. С. 389-396.
260. *Wang J., Yang S., Zhang K.* A simple and sensitive method to analyze genotoxic impurity hydrazine in pharmaceutical materials. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2016. V. 126. P. 141-147.
261. *Смоленков А.Д., Чернобровкина А.В., Смирнов Р.С., Шпигун О.А.* Определение гидразина методом жидкостной хроматографии с предварительной дериватизацией 2,3-нафталиндиальдегидом. // *Журн. аналит. химии.* 2012. Т. 67. №. 4. С. 404-404.
262. *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. // *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 2013. V. 93. №. 12. P. 1286-1295.
263. *Oh J.A., Shin H.S.* Simple and sensitive detection of hydrazine in industrial wastewater using high-performance liquid chromatography with fluorescence detector after anthracene-2,3-dicarbaldehyde derivatization. // *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 2015. V. 38. №. 17. P. 1616-1621.
264. *Christofi M., Markopoulou C.K., Tzanavaras P.D., Zacharis C.K.* UHPLC-fluorescence method for the determination of trace levels of hydrazine in allopurinol and

- its formulations: Validation using total-error concept. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2020. V. 187. P. 113354.
265. *Oh J.A., Shin H.S.* Simple and sensitive determination of hydrazine in drinking water by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry after derivatization with naphthalene-2,3-dialdehyde. // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1395. P. 73-78.
266. *Смирнов Р.С., Смоленков А.Д., Болотник Т.А., Шпигун О.А.* Применение глиоксаля и глиоксиловой кислоты для определения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия.* 2013. Т. 54. №. 1. С. 22-28.
267. *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. 923-923.
268. *Osipenko S.V., Smirnov R.S., Smolenkov A.D., Shpigun O.A.* Highly sensitive determination of 1,1-dimethylhydrazine by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry with precolumn derivatization by phenylglyoxal. // *J. Anal. Chem.* 2016. V. 71. №. 13. P. 1228-1232.
269. *Евгеньев М.И., Евгеньева И.И., Гармонов С.Ю., Исмаилова Р.Н.* Экстракционно-хроматографическое определение гидразина в природных водах в виде 5,7-динитробензофуразанового производного с диодно-матричным детектированием. // *Журн. аналит. химии.* 2000. Т. 55. № 10. С. 1038-1043.
270. *Евгеньев М.И., Евгеньева И.И., Гармонов С.Ю., Исмаилова Р.Н., Белов П.Е.* Сорбционно-хроматографическое определение гидразина и его замещенных в воздухе. // *Журн. аналит. химии.* 2006. Т. 61. № 5. С. 492-498.
271. *Susinskis I., Mekss P., Hmelnickis J.* Method development for the determination of 1,1-dimethylhydrazine by the high-performance liquid chromatography–mass spectrometry technique. // *Eur. J. Mass Spectrom.* 2018. V. 24. №. 4. P. 352-359.
272. *Weiss J.* Handbook of Ion Chromatography. 3rd Ed. Weinheim: Wiley-VCH. 2004. 894 pp.
273. *Buszewski B., Noga S.* Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC)–a powerful separation technique. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2012. V. 402. №. 1. P. 231-247.

274. *Xu F., Zou L., Liu Y., Zhang Z., Ong C.N.* Enhancement of the capabilities of liquid chromatography–mass spectrometry with derivatization: general principles and applications. // *Mass Spectrom. Rev.* 2011. V. 30. №. 6. P. 1143-1172.
275. *Qi B.L., Liu P., Wang Q.Y., Cai W.J., Yuan B.F., Feng Y.Q.* Derivatization for liquid chromatography-mass spectrometry. // *TrAC, Trends Anal. Chem.* 2014. V. 59. P. 121-132.
276. *Santa T.* Derivatization reagents in liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. // *Biomed. Chromatogr.* 2011. V. 25. №. 1-2. P. 1-10.
277. *Gosetti F., Mazzucco E., Zampieri D., Gennaro M.C.* Signal suppression/enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. // *J. Chromatogr. A.* 2010. V. 1217. №. 25. P. 3929-3937.
278. *Jencks W.P.* Studies on the mechanism of oxime and semicarbazone formation. // *J. Am. Chem. Soc.* 1959. V. 81. №. 2. P. 475-481.
279. *Кутаев Ю.П., Бузыкин Б.И.* Гидразоны. М.: Наука, 1974. 415 с.
280. *Sayer J.M., Peskin M., Jencks W.P.* Imine-forming elimination reactions. I. General base acid catalysis and influence of the nitrogen substituent on rates and equilibria for carbinolamine dehydration. // *J. Am. Chem. Soc.* 1973. V. 95. №. 13. P. 4277-4287.
281. *Sayer J.M., Pinsky B., Schonbrunn A., Washtien W.* Mechanism of carbinolamine formation. // *J. Am. Chem. Soc.* 1974. V. 96. №. 26. P. 7998-8009.
282. *Hegarty A.F.* Ionic reactions involving hydrazo, azo and azoxy groups. / *The Chemistry of the Hydrazo, Azo and Azoxy Groups.* V. 1. (Ed. *S. Patai*). New York.: Wiley & Sons, Ltd. 1975. P. 643-723.
283. *Cordes E.H., Jencks W.P.* On the mechanism of Schiff base formation and hydrolysis. // *J. Am. Chem. Soc.* 1962. V. 84. №. 5. P. 832-837.
284. *Gojon C., Dureault B.* Spectrophotometric Study of the Reaction between Hydrazine and p. dimethylaminobenzaldehyde. // *J. Nucl. Sci. Technol.* 1996. V. 33. №. 9. P. 731-735.
285. *Овербергер Ч.Д., Ансельм Ж.-П., Ломбардино Д.Г.* Органические соединения со связями азот-азот. Л.: Химия, 1970. 125 с.
286. *Newkome G.R., Fishel D.L.* Synthesis of simple hydrazones of carbonyl compounds by an exchange reaction. // *J. Org. Chem.* 1966. V. 31. №. 3. P. 677-681.

287. *Ji K., Lee C., Janesko B.G., Simanek E.E.* Triazine-Substituted and acyl hydrazones: Experiment and computation reveal a stability inversion at low pH. // *Mol. Pharmaceutics*. 2015. V. 12. №. 8. P. 2924-2927.
288. *Yildiz I.* A DFT approach to the mechanistic study of hydrozone hydrolysis. // *J. Phys. Chem. A*. 2016. V. 120. №. 20. P. 3683-3692.
289. *Nawrocki J.* The silanol group and its role in liquid chromatography. // *J. Chromatogr. A*. 1997. V. 779. №. 1-2. P. 29-71.
290. *Свердлова О.В.* Электронные спектры в органической химии. 2-е изд., Л.: Химия, 1985. 248 с.
291. *Barltrop J.A., Conlong M.* Organic photochemistry. Part VI. The ultraviolet absorption spectra of N-substituted hydrazones. // *J. Chem. Soc. B*. 1967. P. 1081-1083.
292. *Iffland D.C., McAneny M.P., Weber D.J.* The ultraviolet spectra of hydrazones. Evidence for a steric effect in tetrasubstituted hydrazones. // *J. Chem. Soc. C*. 1969. №. 13. P. 1703-1706.
293. *Kool E.T., Park D.H., Crisalli P.* Fast hydrazone reactants: electronic and acid/base effects strongly influence rate at biological pH. // *J. Am. Chem. Soc.* 2013. V. 135. №. 47. P. 17663-17666.
294. *Erkkilä A., Majander I., Pihko P.M.* Iminium catalysis. // *Chem. Rev.* 2007. V. 107. №. 12. P. 5416-5470.
295. *Cordes E.H., Jencks W.P.* Nucleophilic catalysis of semicarbazone formation by anilines. // *J. Am. Chem. Soc.* 1962. V. 84. №. 5. P. 826-831.
296. *Dirksen A., Dirksen S., Hackeng T.M., Dawson P.E.* Nucleophilic catalysis of hydrazone formation and transimination: implications for dynamic covalent chemistry. // *J. Am. Chem. Soc.* 2006. V. 128. №. 49. P. 15602-15603.
297. *Crisalli P., Kool E.T.* Water-soluble organocatalysts for hydrazone and oxime formation. // *J. Org. Chem.* 2013. V. 78. №. 3. P. 1184-1189.
298. База данных химических соединений и смесей PubChem. (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)
299. *Banerjee S., Pack Jr E.J., Sikka H., Kelly C.M.* Kinetics of oxidation of methylhydrazines in water. Factors controlling the formation of 1, 1-dimethylnitrosamine. // *Chemosphere*. 1984. V. 13. №. 4. P. 549-559.

300. Krężel A., Leśniak W., Jeżowska-Bojczuk M., Młynarz P., Brasuń J., Kozłowski H., Bal W. Coordination of heavy metals by dithiothreitol, a commonly used thiol group protectant. // J. Inorg. Biochem. 2001. V. 84. №. 1-2. P. 77-88.
301. Hiraoka K., Murata K., Kudaka I. Do the electrospray mass spectra reflect the ion concentrations in sample solution? // J. Mass Spectrom. Soc. Jpn. 1995. V. 43. №. 3. P. 127-138.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица П1. Зависимости площадей диметилгидразонов от коэффициентов емкости (k'). Концентрация НДМГ – 1 мг/л ($n = 3, P = 0.95$)

Реагент	Колонка							
	1		2		3		4	
	k'	S(гидразона), у.е.	k'	S(гидразона), у.е.	k'	S(гидразона), у.е.	k'	S(гидразона), у.е.
БА	1.7	1848±78	1.5	1845±74	2.2	1844±74	1.1	1843±74
	2.0	1846±73	2.1	1825±71	3.6	1827±73	1.9	1830±69
	3.1	1820±75	3.2	1811±79	4.9	1816±79	3.4	1823±75
	5.1	1801±68	5.1	1808±81	6.9	1807±71	6.6	1816±72
2ПА	1.6	2099±84	1.3	2076±83	2.2	2116±85	0.7	2110±88
	2.5	2055±80	1.8	2056±76	2.9	2083±83	1.3	2086±76
	4.7	2031±81	3.0	2018±88	4.3	2051±89	2.8	2049±85
	7.1	2013±85	5.7	2009±81	6.8	2032±79	8.5	2026±75
2НА	1.6	2770±111	1.9	2781±112	1.9	2780±109	1.3	2773±115
	2.5	2752±107	2.3	2775±103	2.4	2775±111	2.1	2762±121
	4.1	2747±110	4.5	2735±108	4.3	2735±102	3.7	2765±107
	7.4	2714±103	5.9	2719±113	8.8	2722±105	7.3	2717±118
2ХА	1.7	2371±95	1.7	2256±90	1.8	2376±99	0.8	2371±91
	2.4	2334±97	2.5	2231±82	2.9	2342±94	1.4	2357±99
	3.6	2315±85	3.9	2215±86	3.9	2329±97	2.6	2347±103
	6.3	2299±92	7.2	2199±94	5.7	2315±91	5.8	2316±97

1 - ZORBAX Eclipse XDB-C18 80Å (4.6 × 150 мм, 5 мкм), **2** - ZORBAX Extend 80Å C18 (4.6 × 250 мм, 5 мкм), **3** - ZORBAX Eclipse Plus C18 95Å (3.0 × 150 мм, 3.5 мкм), **4** - ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD 95Å (3.0 × 50 мм, 1.8 мкм)

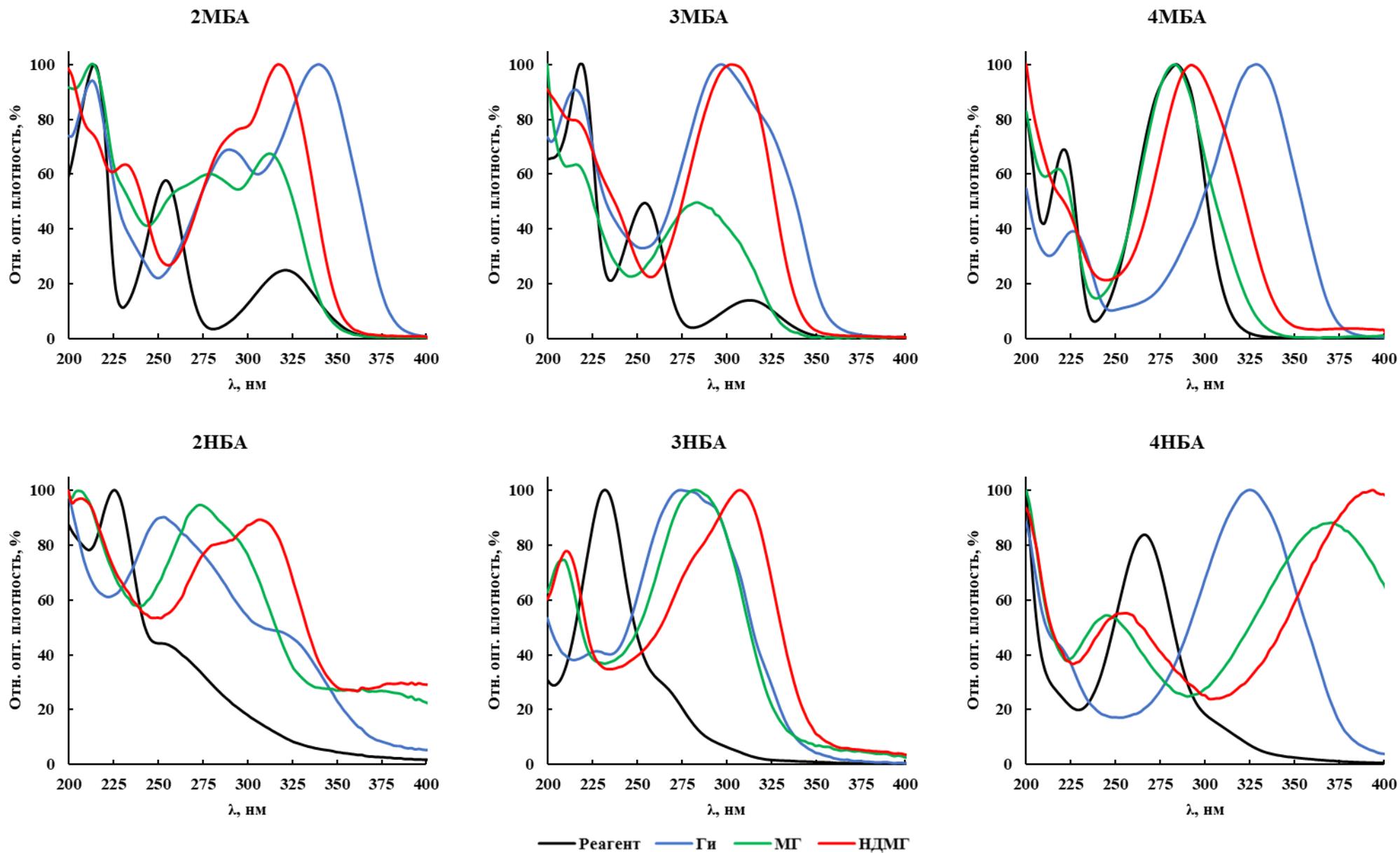


Рис. П1. Наложение нормированных экспериментальных электронных спектров поглощения гидразонов Ги, МГ и НДМГ

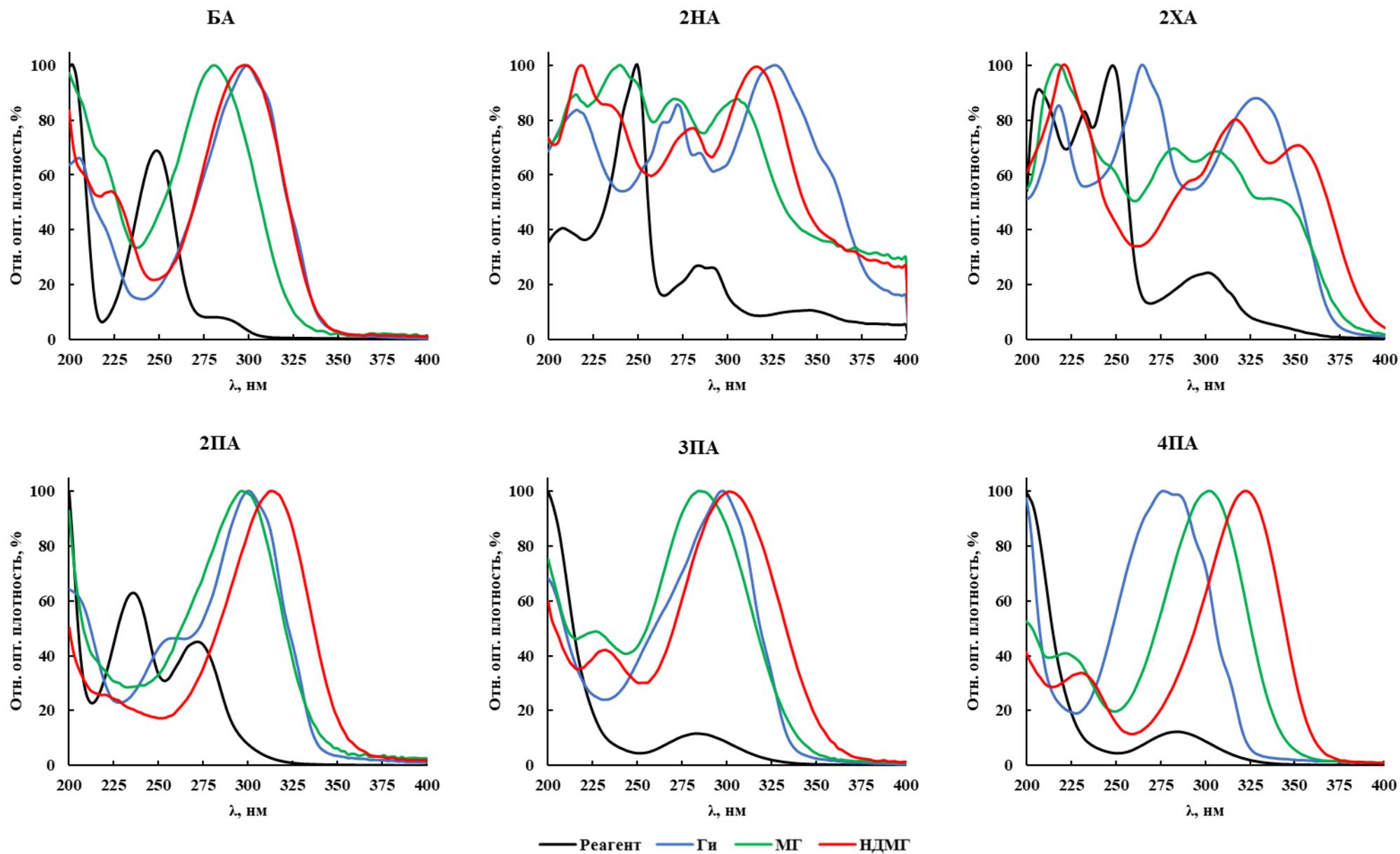


Рис. П1 (продолжение). Наложение нормированных экспериментальных электронных спектров поглощения гидразонов Ги, МГ и НДМГ

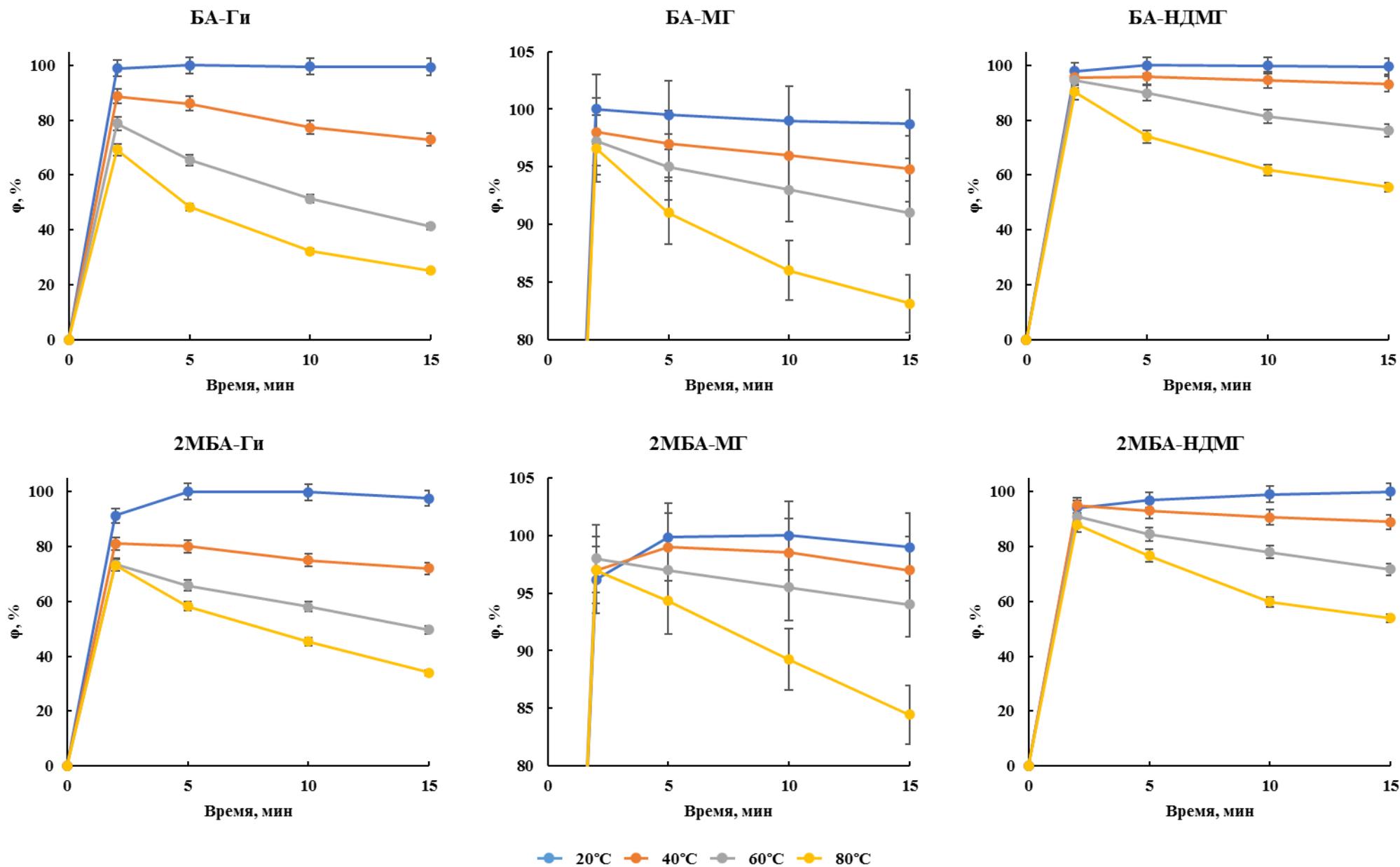


Рис. П2. Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (φ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)

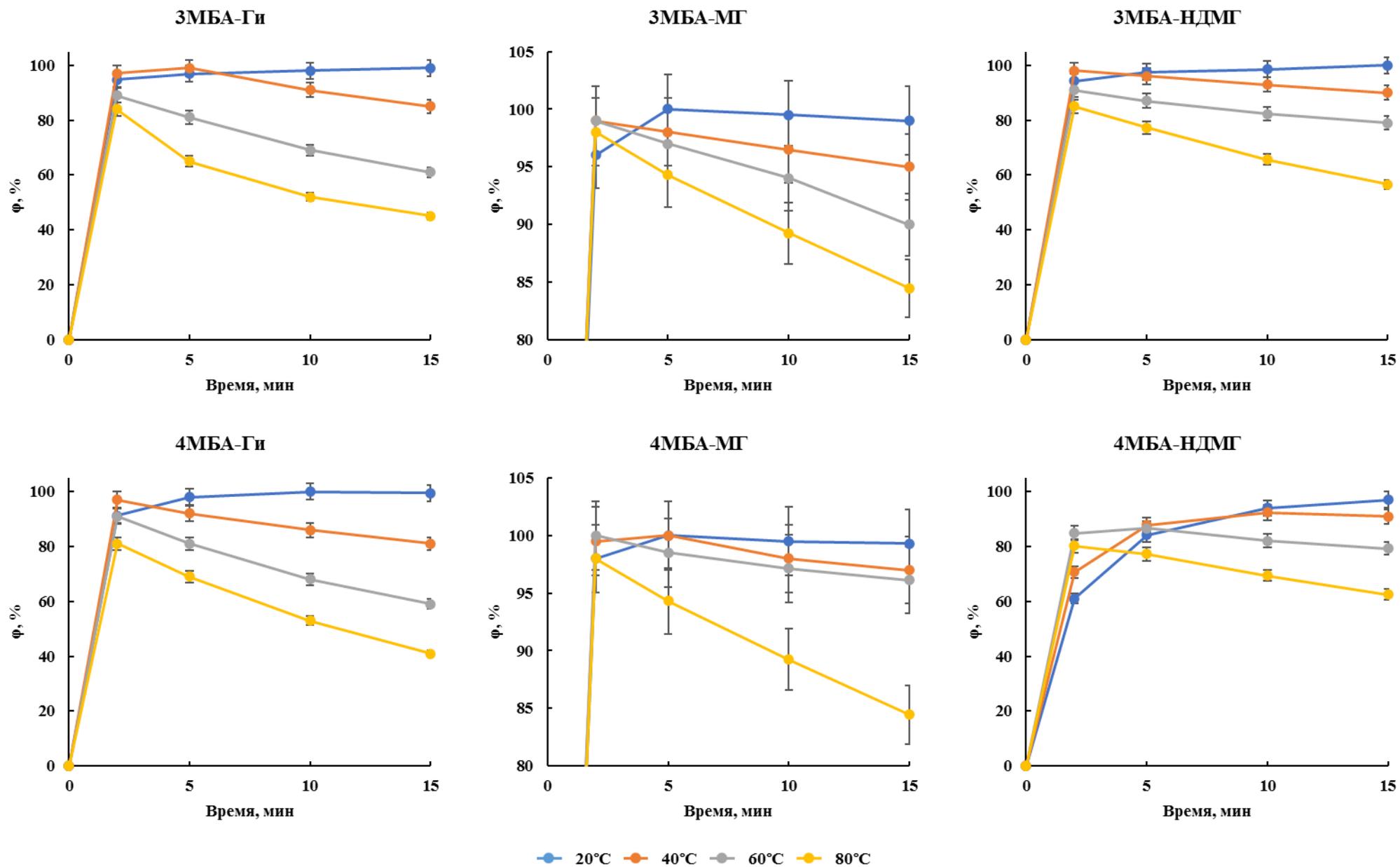


Рис. П2 (продолжение). Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (φ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)

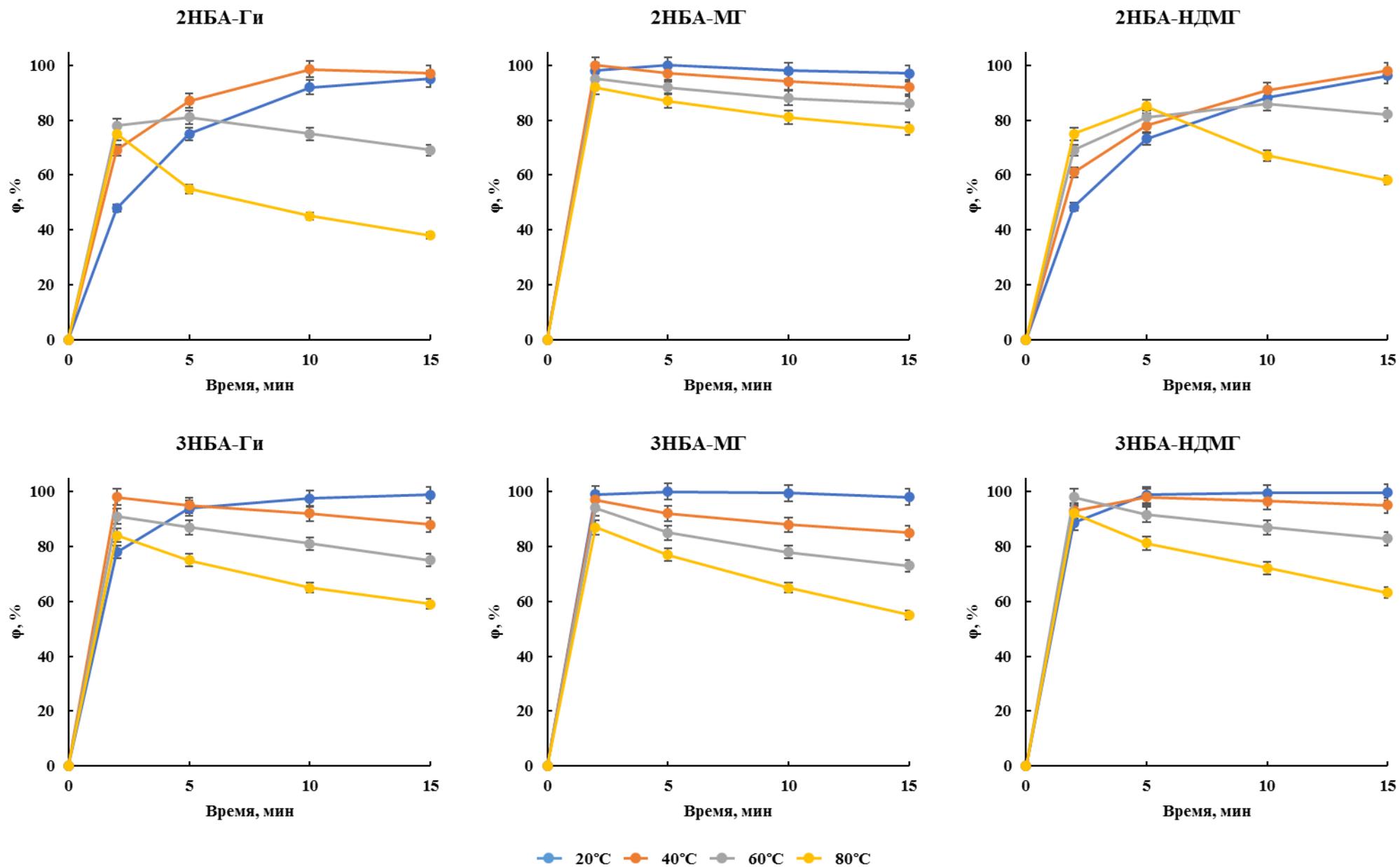


Рис. П2 (продолжение). Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (φ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)

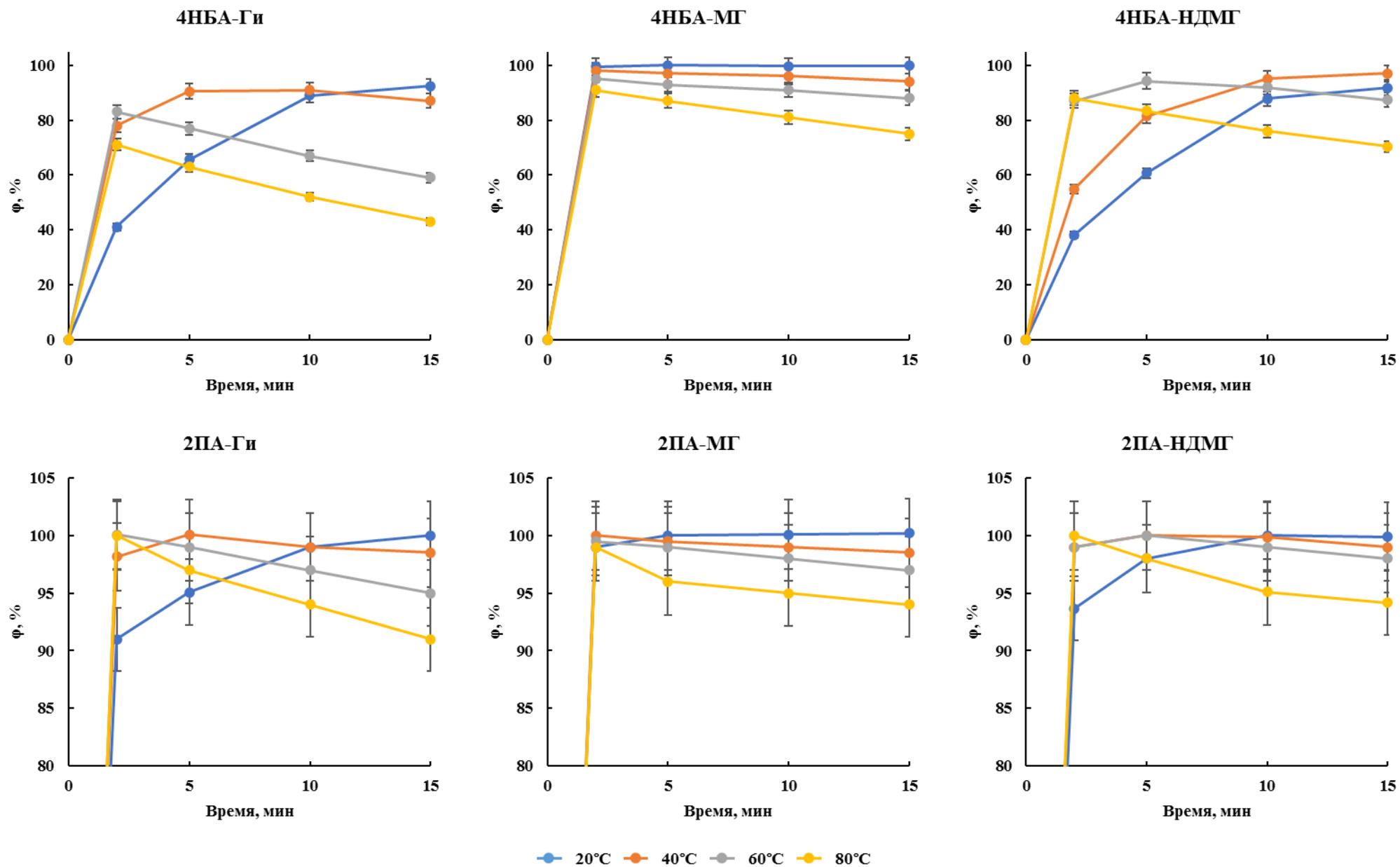


Рис. П2 (продолжение). Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (φ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)

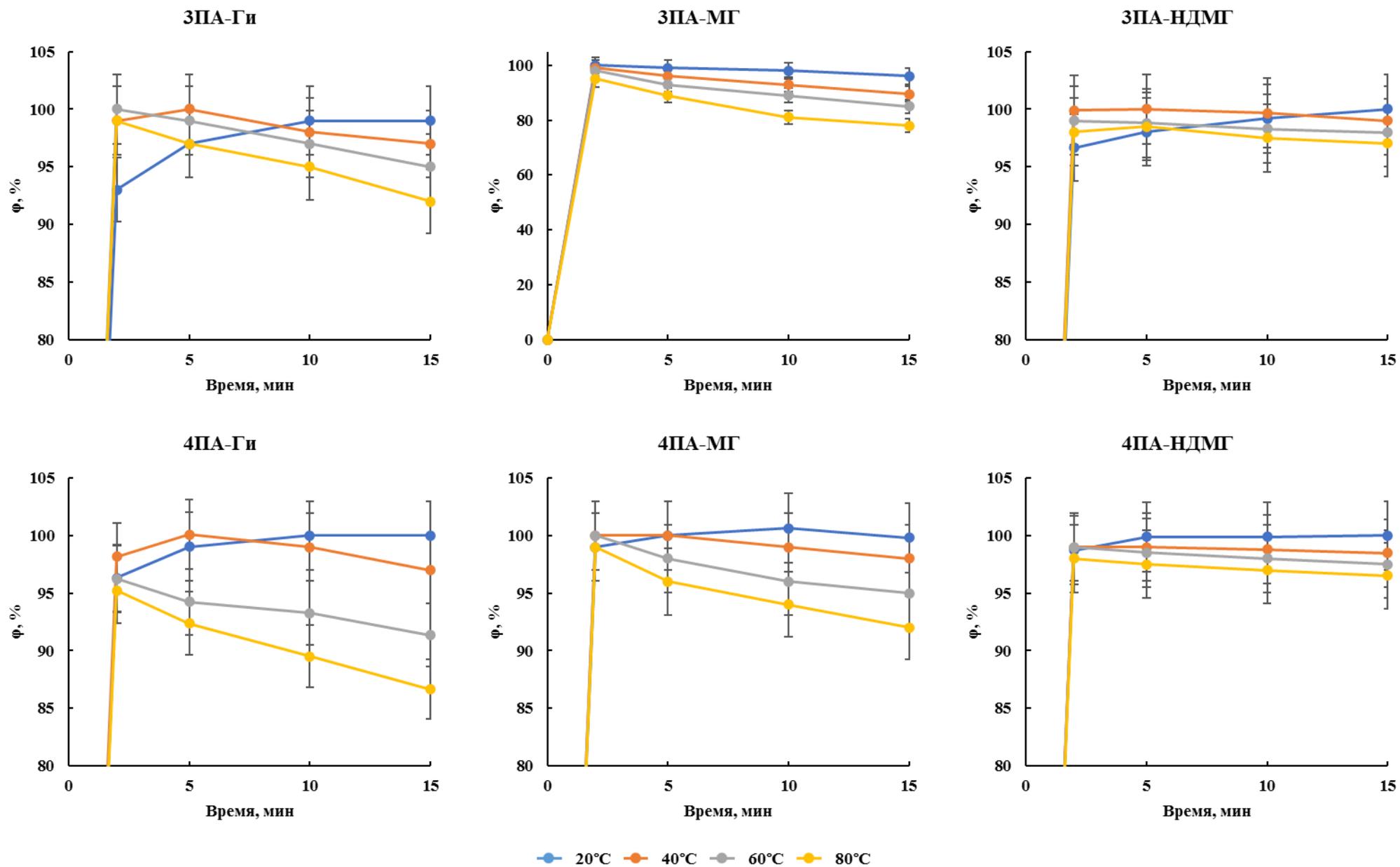


Рис. П2 (продолжение). Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (φ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)

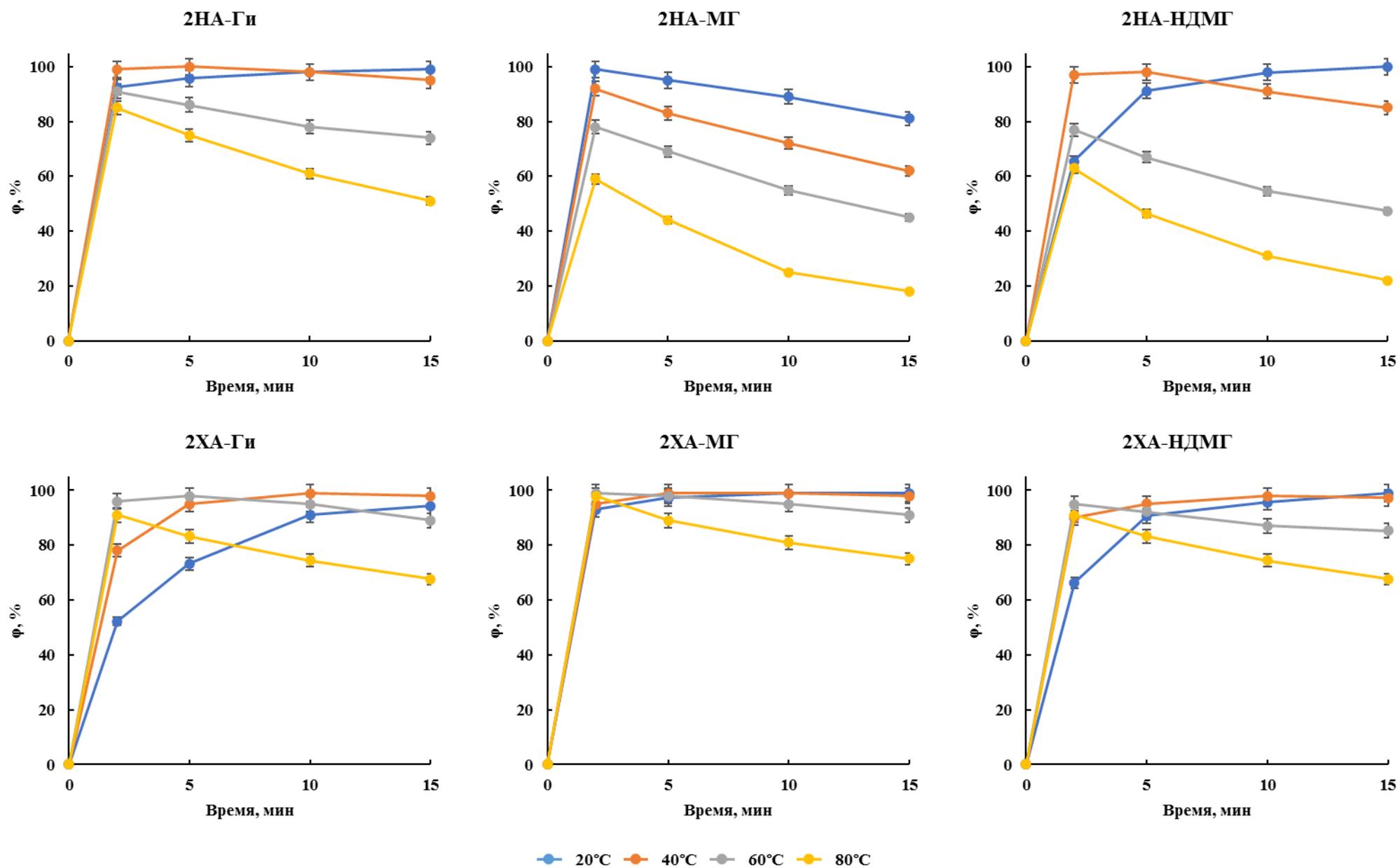


Рис. П2 (продолжение). Зависимости выхода производных гидразинов с ароматическими альдегидами (φ) от температуры ($n = 3, P = 0.95$)