

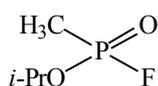
УДК 543.547:615.9

Исследование продуктов превращений фосфорорганических отравляющих веществ методом газовой хроматографии — масс-спектрометрии

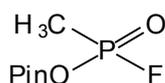
Кандидат химических наук, старший научный сотрудник НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека МЗ РФ **Е. И. Савельева**, доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией хроматографии НИИ химии Санкт-Петербургского государственного университета **И. Г. Зенкевич**, старший научный сотрудник НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека МЗ РФ **Т. А. Кузнецова**, кандидат медицинских наук, заместитель директора по научной работе НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека МЗ РФ **А. С. Радиллов**, старший инженер НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека МЗ РФ **Г. В. Пшеничная**

В соответствии с Международной конвенцией о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия на объектах по уничтожению химического оружия в Российской Федерации внедряется технология химической нейтрализации с последующим битумированием твердых отходов и образованием так называемых битумно-солевых масс [1, 2]. Состав продуктов подобной детоксикации фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ) по данной технологии до настоящего времени полностью не изучен. Между тем проведение таких исследований необходимо для установления степени опасности образующихся отходов в целях обеспечения безопасности работ по уничтожению химического оружия, а также квалифицированного участия России в инспекционных проверках в соответствии с задачами Конвенции.

В настоящей статье обсуждаются результаты хромато-масс-спектрометрического анализа продуктов уничтожения зарина, зомана и вещества VX российского производства

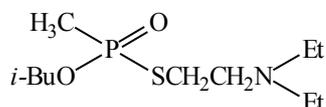


Зарин



Зоман

Pin = $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$
(пинаколил)



Вещество VX

щелочными нейтрализующими составами, содержащими моноэтаноламин или изобутиловый спирт.

Состояние проблемы

В официальных списках токсичных веществ и их предшественников 18 групп из 43 составляют фосфорорганические соединения. Некоторые из этих групп включают десятки тысяч фосфорорганических веществ и сотни тысяч продуктов их разложения. Такое количество химических соединений не могут быть обеспечены в обозримом будущем базами данных по физико-химическим характеристикам. В то же время формирование таких баз данных, даже заведомо неполных, является важной задачей по следующим причинам.

1. Разработка алгоритмов идентификации токсичных химикатов без использования баз данных по стандартным соединениям опирается на выявление ключевых признаков физико-химических характеристик (спектры) этих соединений. Чем больше справочных данных, тем надежнее алгоритм.

2. Если при идентификации неизвестного соединения интерпретация его спектра осуществляется «вручную», то спектры структурных аналогов используются как материал для отнесения характеристичных сигналов к определенным фрагментам структуры (спектро-структурных корреляций). Далее эти фрагменты могут быть «опознаны» в молекулах неизвестных соединений.

3. Базы справочных данных необходимы для получения отрицательных ответов, что снижает вероятность ошибочной идентификации.

Масс-спектры электронного удара и химической ионизации фосфорорганических соединений, включенных в списки приложений к Конвенции, приводятся в ряде оригинальных работ. Для нескольких десятков таких соединений масс-спектры приведены в «Рекомендуемых рабочих процедурах» [3], содержащих данные, полученные посредством международных сличительных тестов «Раунд-Робин». Основной задачей этой работы являлась идентификация химических соединений, имеющих отношение к отравляющим веществам, в различных матрицах. Главная трудность при проведении идентификации была связана с отсутствием необходимых справочных масс-спектров. Даже наиболее обширные коммерческие библиотеки (Wiley, NIST) содержат очень мало масс-спектров токсичных веществ, попадающих под действие Конвенции, так что вероятность успешного использования компьютерного библиотечного поиска и коммерческих библиотек масс-спектров для идентификации соединений из списков Конвенции достаточно низка. Поэтому создание компьютерного банка данных масс-спектров продуктов превращений и примесей отравляющих веществ остается крайне актуальной задачей. До тех пор, пока эта задача не будет решена, мы вынуждены будем идти по пути формирования локальных баз данных.

Большое количество масс-спектров ФОВ получено российскими аналитиками [4—6]. Наряду с созданием банка масс-спектров проводятся исследования, направленные на выявление ключевых фрагментов диссоциативной ионизации ФОВ, с целью разработки алгоритмов их идентификации без использования баз данных по стандартным соединениям [7]. Так, в работе [7] предложена блок-схема для идентификации фосфорорганических соединений по масс-спектрам электронного удара на основании ряда спектро-структурных корреляций. Для интерпретации масс-спектров электронного удара в отсутствие справочных данных может быть применен также метод ионных серий [8].

В объектах окружающей среды под действием различных факторов фосфорорганические вещества претерпевают ряд превращений с образованием в конечном итоге соединений, относящихся к производным алкилфосфоновых кислот. Связь С—Р в молекулах этих соединений обладает относительно высокой прочностью. Обнаружение в объектах окружающей среды соединений с фосфор-углеродной связью скрининговыми методами указывает на то, что соответствующая территория может быть подвергнута инспекции с целью выявления запрещенной Конвенцией деятельности.

В недалеком прошлом аналитическая химия ФОВ относилась преимущественно к целевому анализу этих соединений.

С начала 1980-х годов безусловный приоритет в анализе отравляющих веществ завоевывают хроматографические методы. В 1990 г. З. Виткиевичем и М. Мазуреком был опубликован исчерпывающий обзор [9] по использованию различных методов хроматографии (планарной, газовой, жидкостной) для определения главных отравляющих веществ. В настоящее время исследования в этой области продолжают, причем преимущественно в направлении достижения все более низких пределов обнаружения.

Газовая хроматография, как в составе гибридных хромато-спектральных методов, так и в качестве самостоятельного метода, играет основную роль в анализе ФОВ. Идентификация токсичных химикатов методом газовой хроматографии проводится либо по индексам удерживания, либо по относительным откликам детекторов. Второй подход удобен при скрининговом отборе проб, когда приходится анализировать большие массивы образцов. Относительные отклики газохроматографических детекторов не вошли в число обязательных параметров для идентификации ФОВ по требованиям Организации по запрещению химического оружия [3], однако, как следует из некоторых источников [10], их использование для целей идентификации может быть весьма полезным. Другому хроматографическому параметру — индексу удерживания, в уделяется значительное внимание. Так, в [3] для каждого стандартного образца приводятся четыре значения индекса удерживания — относительно двух различных систем реперов и для двух различных капиллярных колонок. Наиболее важной для оценки воспроизводимости и правильности измерения индексов удерживания токсичных веществ до сих пор остается опубликованная в 1993 г. работа М.Кокко [11]. Анализ ФОВ газохроматографическими методами в настоящее время можно отнести к области рутинных процедур [9, 12]. Опубликованы оригинальные работы, в которых газовая хроматография применяется как тестовый метод при оптимизации условий твердофазной и сверхкритической флюидной экстракции при анализе ФОВ в воде [13] и в почве [14].

Важно отметить, что, несмотря на все более широкое применение жидкостной хроматографии, газовая хроматография остается основным методом анализа метаболитов ФОВ в биологических средах. В работе [15] газовую хроматографию использовали для исследования метаболизма вещества VX в плазме крови крыс. Газовую хроматографию с азотно-фосфорным (термоионным) детектированием применяли для анализа алкилметилфосфоновых кислот — возможных метаболитов зарина в моче [16]. В цитируемой работе описан подход, связанный с концентрированием и после-

дующим анализом больших объемов мочи, взятой у пациентов, пострадавших во время террористического акта в Токийском метро.

Важным достоинством газовой хроматографии является возможность разделения диастереомеров, что имеет особое значение для анализа ФОВ (их молекулы имеют два хиральных центра, одним из которых является атом фосфора). Известно, что диастереомеры и энантиомеры могут обладать различными токсикологическими характеристиками и по-разному вести себя в биохимических процессах. Сообщалось даже, что такие изомеры ФОВ могут обнаруживать различные пути распада [17]. Ряд методов для разделения пространственных изомеров зарина, зомана, табуна разработан в лаборатории Принца Морица [18, 19]. Сообщений о разделении энантиомеров вещества VX в доступной литературе пока не обнаружено.

Перспективные исследования в области газохроматографического анализа ФОВ связаны с «быстрой хроматографией», позволяющей за счет сверхвысокой скорости газаносителя осуществлять разделение сложных смесей в течение нескольких минут [20], и с двухмерной газовой хроматографией, а также с разработкой различных технических решений, обеспечивающих существенное повышение чувствительности анализа. Последнее достигается как за счет введения в хроматограф больших объемов пробы [21], так и за счет повышения эффективности известных детекторов или разработки новых. В качестве примера можно привести пульсирующий пламенно-фотометрический детектор [22], который в области анализа отравляющих веществ может стать альтернативой атомно-эмиссионному детектору.

Деятельность аналитических центров, обеспечивающих выполнение конвенциональных обязательств, невозможна без использования масс-спектрометрии, в том числе ее тандемного варианта в различных режимах ионизации (электронный удар, химическая ионизация с детектированием положительных и отрицательных ионов, лазерная десорбция и т.д.). Метод, сочетающий газовую хроматографию и масс-спектрометрию, (ГХ-МС) в обязательном порядке используется всеми участниками международных сравнительных тестов «Раунд-Робин» [23]. В [24] сообщается о достижении предела обнаружения 50 нг вещества в расчете на одну сорбционную трубку при ретроспективном ГХ-МС анализе ФОВ с использованием высокотемпературной автоматической термодесорбции. В [25] предложен хромато-масс-спектрометрический метод с химической ионизацией для анализа метаболита VX — этилметилфосфоновой кислоты,

обеспечивающий предел обнаружения 50 нг/л при регистрации полного ионного тока и 3 нг/мл в режиме селективного ионного детектирования.

Преимущества тандемной хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС-МС) продемонстрированы в [26] и других работах. В режиме целевого анализа ФОВ этот метод обеспечивает достижение крайне низких пределов обнаружения зомана и зарина (30—70 пг) при мониторинге ионов со значениями m/z 99 и 79. Хорошие результаты при анализе метилфосфоновых кислот в биологических средах дает комбинация ГХ-МС-МС в режиме химической ионизации с детектированием отрицательных ионов [27]. Анализ метилфосфоновых кислот после их дериватизации пентафторбензилбромидом проводится с пределом обнаружения до нескольких фемтограммов.

При всем обилии сведений по проблеме хромато-масс-спектрометрического анализа ФОВ, данных о распаде российского продукта VX нет, отсутствуют также данные о продуктах превращений ФОВ в условиях химической нейтрализации по российской технологии. Поэтому на первом этапе работ по исследованию продуктов детоксикации ФОВ целесообразно провести анализ проб, содержащих продукты уничтожения ФОВ, как объектов неизвестного состава. Второй этап работы включает выявление в ряду продуктов распада ФОВ наиболее характеристичных, устойчивых и селективно детектируемых химических соединений, названных химическими маркерами ФОВ [28].

Сведения о токсичности основных продуктов распада ФОВ

Информацию о примесях, стабилизаторах и продуктах деградации отравляющих веществ, в том числе и фосфорорганических, можно найти в обзоре [29]. Здесь же для ряда соединений приведены параметры токсичности. Универсальным маркером всех ФОВ, относящихся к эфирам или тиоэфирам метилфосфоновой кислоты, является сама метилфосфоновая кислота — конечный продукт гидролиза ее эфиров. Это стойкое соединение было обнаружено спустя 10 лет после загрязнения сухой почвы на полигоне Дагуэй (США). Метилфосфоновая кислота имеет низкую токсичность для млекопитающих и водных организмов, LD_{50} для крыс составляет $0,5 \cdot 10^3$ мг/кг при пероральном введении*. Обладает раздражающим действием.

* Здесь и далее параметры токсичности приводятся по данным [29].

Этиловый эфир метилфосфоновой кислоты (основной продукт распада традиционного — «американского» VX) достаточно стабилен, но в почве возможен его гидролиз до кислоты. Экспериментальных данных по токсичности этого эфира нет. Для диэтилового эфира метилфосфоновой кислоты при внутривенном введении мышам LD_{50} составляет $2 \cdot 10^3$ мг/кг.

Изопропиловый эфир — химический маркер зарина, обладает низкой токсичностью для млекопитающих. Доза изопропилметилфосфоната, вызывающая острую пероральную токсичность для крыс и мышей, превышает $5 \cdot 10^3$ мг/кг, в частности, для мышей-самцов она равна $5,6 \cdot 10^3$ мг/кг.

Изопропилметилфосфонат исследован как основной продукт распада зарина. Он достаточно устойчив в окружающей среде, медленно гидролизует до метилфосфоновой кислоты. По данным Агентства по охране окружающей среды США ежедневная доза, не оказывающая вредного влияния на здоровье человека в течение всей его жизни, для этого эфира составляет около 0,1 мг/кг. Для самой метилфосфоновой кислоты этот показатель не известен, но должен быть более высоким. Диизопропилметилфосфонат, рассматриваемый как постоянная примесь в зарине, также устойчив в окружающей среде. Он обнаружен в грунтовых водах на территории арсенала Рокки-Маунтин (США). В организме млекопитающих этот диэфир быстро гидролизует до моноэфира. Диизопропилметилфосфонат проявляет умеренную острую токсичность (LD_{50} для крыс при пероральном введении $0,8 \cdot 10^3$ мг/кг).

Продукт распада зомана — пинаколилметилфосфоната по аналогии с изопропилметилфосфонатом и метилфосфоновой кислотой считается малотоксичным.

Что касается продуктов распада вещества VX — О-этил-S-[2-диизопропиламиноэтил]метилтиофосфоната, то данные по токсичности имеются только для двух соединений — бис(2-диизопропиламиноэтил)дисульфида — EA 4196 по ERTEC классификации и (диизопропиламиноэтил)метилтиофосфоната — EA 2192.

EA 4196 устойчив в окружающей среде и хорошо сохраняется в почве. Пока неизвестно, где он с большей вероятностью должен обнаруживаться — в воде или в почве. Данные по токсичности для млекопитающих и экотоксичности отсутствуют.

EA 2192 стабилен в воде, но как и вещество VX, легко разлагается в почве. Обладает высокой токсичностью и антихолинэстеразной активностью. Параметры токсичности существенно варьируют в зависимости от пути поступления вещества в организм (LD_{50} для крыс перорально — 630 мг/кг, внутривенно — 18 мг/кг). По токсичности EA 2192 лишь незначительно уступает VX при внутривенном введении, при оральном поступлении

его токсичность составляет 0,1—0,2 от токсичности VX. Ввиду низкой летучести ингаляционное поступление EA 2192 маловероятно. Это вещество не проникает также через кожу при аппликации водного или спиртового раствора. Данные по экотоксичности отсутствуют. Из-за низкой летучести EA 2192 прямой газохроматографический анализ этого соединения невозможен. Стандартные процедуры дериватизации (силилирования) по данным [30] также неэффективны. Пригодные для газохроматографического анализа производные этого соединения могут быть получены пока одним способом, а именно, метилированием в испарителе хроматографа [30].

Таким образом, из известных продуктов гидролиза вещества VX наибольшую опасность представляют два: персистентный бис(2-диизопропиламиноэтил)дисульфид и высокотоксичный и персистентный при определенных условиях (диизопропиламиноэтил)метилтиофосфонат.

При распаде изомерного VX и продукта VX российского производства образуются структурные аналоги указанных веществ: бис(2-диэтиламиноэтил)дисульфид и (диэтиламиноэтил)метилтиофосфонат. Данных о поведении этих продуктов в объектах окружающей среды, острой и хронической токсичности для человека и млекопитающих, а также экотоксичности нет.

Анализ образцов, содержащих продукты превращений ФОВ

Для подготовки к анализу образцов битумно-солевых масс, включающих продукты уничтожения ФОВ, и их водных вытяжек использовались следующие методы.

Парофазный анализ (метод I) осуществляли в статическом режиме: 1 г образца термостатировали 40 мин при 70 °С во флаконах емкостью 10 мл с тефлоновой мембраной. Для анализа отбирали 1 мл равновесного пара. Данный метод позволяет определять легколетучие соединения; неопределяемые компоненты — полярные нелетучие соединения (метилфосфоновая кислота и ее кислые эфиры).

Органические экстракты битумно-солевых масс готовили обработкой их навесок метилхлоридом или ацетонитрилом с использованием ультразвуковой ванны.

С учетом возможных аварийных ситуаций, связанных с проникновением продуктов уничтожения ФОВ из битумно-солевых масс в грунтовые воды, проводили анализ водных вытяжек масс. Для подготовки проб битумно-солевых масс наливали в формы из химически инертного материала, выдерживали 24 ч, после чего заливали водно-солевым рас-

твором, имитирующим состав грунтовых вод, и выдерживали в течение 4 суток при 25 °С.

Нейтральные экстракты водных вытяжек битумно-солевых масс готовили обработкой 10 мл водной пробы метилхлоридом (3×2мл) при pH=7 (метод II). Объединенный экстракт сушили, концентрировали и анализировали. Метод позволяет определять умеренно летучие соединения.

Водный остаток от экстракции метилхлоридом делили пополам. Аликвоту первой части упаривали досуха, растворяли в 20 мкл смеси метилхлорид—ацетонитрил (1:1), добавляли 20 мкл реагента BSA или BSTFA (см. ниже) и выдерживали 20 мин при 60 °С (метод III), при необходимости разбавляли и анализировали. Вторую часть использовали для приготовления кислых экстрактов водных вытяжек: подкисляли до pH 1—2 разбавленной серной кислотой, насыщали хлоридом натрия и экстрагировали ацетонитрилом (3×2мл). Объединенный экстракт сушили, концентрировали, повторно сушили, растворяли в 20 мкл смеси метилхлорид—ацетонитрил (1:1), добавляли 20 мкл BSA или BSTFA и выдерживали 20 мин при 60 °С (метод IV).

Для анализа (диэтиламиноэтил)метилтиофосфоната аликвотную часть ацетонитрильного раствора битумно-солевых масс, содержащих продукт VX, смешивали с равным объемом 0,1 М метанольного раствора гидроксида триметиланилина. Метилирование кислоты происходило в испарителе хроматографа при температуре 250 °С.

Стандартные образцы метилфосфоновой кислоты и ее моноэфиров (изопропилового, изобутилового и пинаколилового) были синтезированы и любезно предоставлены сотрудниками ГосНИИОХТ. Использованные в работе растворители (метилхлорид, ацетонитрил) очищали путем стандартных процедур с последующей перегонкой на ректификационной колонке. В качестве дериватирующих реагентов использовали N,O-бис(триметилсилил)ацетамид (BSA), бис(триметилсилил)трифторацетамид (BSTFA), 0,1 М метанольный раствор гидроксида триметиланилина фирмы «Мерк» (Германия).

Хромато-масс-спектрометрический анализ проводили на приборном комплексе фирмы «Шимадзу» (Япония), включающем газовый хроматограф GC-17A, масс-спектрометр QP 5000 с квадрупольным анализатором и систему обработки данных. Метод ионизации — электронный удар, энергия ионизирующих электронов 70 эВ. Температура ионного источника 280 °С. Настройку прибора осуществляли в автоматическом режиме по перфтортрибутиламину.

Разделение проводили на капиллярной колонке 25 м × 0,2 мм из плавленного кварца с неподвижной фазой DB-5, толщи-

на пленки 0,33 мкм. Расход газа-носителя (гелий) через колонку — 1 мл/мин. Жидкие пробы объемом 0,5—1 мкл вводили в режиме splitless (0,3 мин); газовые пробы объемом 1 мл — в режиме split. Температура инжектора 250 °С. Температуру колонки программировали от 40 °С (1 мин) со скоростью 5 °С/мин до 270 °С (15 мин).

Для определения времен удерживания реперных компонентов анализировали искусственную смесь n-алканов C₆—C₂₀ и дизельное топливо марки ДТ-1 с идентификацией в этом образце углеводородов C₂₁—C₂₆.

Линейно-логарифмические индексы удерживания, измеряемые в режиме программирования температуры, вычисляли по формулам и алгоритмам, приведенным в справочнике [31].

Идентификация продуктов превращений ФОВ

Основными продуктами детоксикации зарина и зомана являются соответственно изопропиловый и пинаколиновый спирты, изопропиловый и пинаколиловый моно- и диэфиры метилфосфоновой кислоты, а также сама метилфосфоновая кислота. Состав продуктов распада вещества VX российского производства гораздо сложнее и насчитывает несколько десятков летучих органических соединений, среди которых преобладают алкилдиэтиламиноэтилмоно- и дисульфиды, не содержащие атомов фосфора. Масс-спектры этих соединений трудноразличимы и в большинстве своем имеют лишь один интенсивный сигнал с *m/z* 86, соответствующий иону [(Et)₂NCH₂]⁺. Из фосфорсодержащих продуктов в значительных количествах обнаружены метилфосфоновая кислота и ее моно- и диизобутиловый эфиры.

Таким образом, среди продуктов уничтожения трех исследованных ФОВ в условиях двухстадийной технологии можно выделить гомологические ряды моно- и диалкилметилфосфонатов. Нам представляется, что именно эти соединения, а также продукт их гидролиза — метилфосфоновая кислота, наиболее целесообразно выбрать в качестве химических маркеров для оценки предполагаемого загрязнения объектов окружающей среды. Наиболее значимыми аргументами в пользу этого решения являются возможность селективного детектирования и минимум артефактов ввиду редкой встречаемости в окружающей среде соединений с P—C-связями.

В табл.1 приведены стандартные масс-спектры электронного удара фосфорсодержащих соединений, являющихся продуктами уничтожения ФОВ, и их линейно-логарифмические индексы удерживания, определенные с использованием капиллярной колонки с неподвижной

Таблица 1

Результаты хромато-масс-спектрометрического определения химических маркеров ФОВ

Соединение (маркер)	Время удерживания, мин	Индекс удерживания	Главные сигналы масс-спектров*, <i>m/z</i> (<i>юти</i> , %)	Источник соединения	Метод подготовки пробы**
Диизопропилметилфосфонат	16,25	1067	165(4), 139(7), 137(3), 123(65), 121(9), 97(100) , 80(7), 79(21), 65(4), 47(5), 45(7), 43(9).	Зарин	I, II
Диизобутилметилфосфонат	23,58	1298	165(2), 153(5), 137(9), 135(3), 111(5), 110(9), 97(100) , 80(8), 79(11), 57(11), 43(4).	VX, все ФОВ при нейтрализации изобутиловым спиртом	I, II
Дипинаколилметилфосфонат	29,66	1501	208(4), 207(38), 181(2), 180(1), 165(12), 124(60), 123(99), 111(3), 97(100) , 85(36), 80(12), 69(11), 57(16).	Зоман	II
Пинаколил-изобутилметилфосфонат***	26,56 26,85	1393 1402	221(1), 179(10), 165(6), 153(11), 137(10), 125(63), 124(27), 123(78), 110(7), 97(100) , 85(24), 80(38), 79(25), 69(22), 57(63), 56(13), 55(28), 45(23)	Зоман при нейтрализации изобутиловым спиртом	II
Изопропилметилфосфонат****	17,70	1110	195(5), 169(15), 155(4), 154(8), 153(100), 152(5), 151(15), 137(4), 123(2), 121(4), 77(7), 75(23), 73(8), 45(9)	Зарин	III, IV
Изобутилметилфосфонат	21,30	1221	209(2), 170(3), 169(24), 167(4), 154(8), 153(100) , 151(15), 137(3), 123(2), 77(7), 75(20), 73(10), 45(8)	VX, все ФОВ при нейтрализации изобутиловым спиртом	III, IV
Пинаколилметилфосфонат	24,28	1320	237(1), 196(15), 195(27), 179(4), 169(33), 153(100) , 152(10), 151(26), 137(6), 121(11), 77(6), 75(20), 73(14), 45(7)	Зоман	III, IV
Метилфосфоновая кислота	18,97	1147	240(8), 227(8), 226(18), 225(100) , 209(4), 195(3), 153(7), 147(10), 135(7), 133(9), 105(8), 75(11), 73(19), 45(12)	Все ФОВ	III, IV

* Жирным шрифтом выделены массовые числа наиболее интенсивных сигналов в масс-спектрах.

** Жирным шрифтом обозначен оптимальный метод подготовки к анализу.

*** Смешанный эфир MePO(OPin)(O*i*Bu) в условиях анализа (капиллярная колонка с неподвижной фазой DB-5) определяется в виде двух хроматографических пиков с равными площадями и одинаковыми масс-спектрами, соответствующих двум диастереомерам: изомеру с индексом удерживания 1393 – (R)P,(S)C или (S)P,(R)C и изомеру с индексом удерживания 1402 – (S)P(S)C или (R)P(R)C.

**** Для данного и всех последующих соединений приведены масс-спектры и индексы удерживания их триметилсилильных эфиров.

жидкой фазой DB-5, которая с некоторыми оговорками может быть отнесена к стандартным неполярным фазам. Отметим, что индексы удерживания триметилсилильных производных метилфосфоновой кислоты приводятся впервые. Из группы соединений, перечисленных в табл. 1, только диэфиры метилфосфоновой кислоты CH₃PO(OR)₂ могут быть определены прямым газохроматографическим анализом. Отметим,

что по сравнению с метилфосфоновой кислотой и моноалкилметилфосфонатами диалкилметилфосфонаты значительно реже упоминаются в литературе в качестве продуктов распада ФОВ, хотя и входят в списки соединений, подлежащих контролю в рамках Международной конвенции о запрещении химического оружия. В условиях разработанной технологии уничтожения ФОВ они могут получаться в результа-

те взаимодействия кислого эфира $\text{CH}_3\text{PO}(\text{OR})(\text{OH})$ и спирта ROH , где $\text{R} = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$ и $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ для зарина, зомана и VX, соответственно. Кроме того, известно, что диэфиры метилфосфоновой кислоты могут накапливаться в качестве примесей в исходных ФОВ, особенно при их длительном хранении.

В наших работах содержание диизопропил- и диизобутилметилфосфоната в битумно-солевых массах определяли методом статического парофазного анализа. Дипинаколиловый и смешанный пинаколил-изопропиловый эфиры в битумно-солевых массах, содержащих зоман, количественно можно определить лишь в экстрактах. Из данных табл. 1 видно, что наиболее интенсивный сигнал в масс-спектрах всех диэфиров — это пик с m/z 97. В случае анализа грунтовых вод и почв хромато-масс-спектрометрическим методом по массовому числу этих ионов возможно групповое определение диалкилметилфосфонатов в режиме селективного ионного детектирования. Подготовку проб к анализу проводили по методу II. Чувствительность анализа высокая: предел обнаружения в воде составляет 0,1 мкг/л. В то же время эфиры двухосновных карбоновых кислот, алкены, алкилтиофены и соединения некоторых других рядов, часто присутствующие в почве, также дают интенсивные сигналы с m/z 97. Поэтому, если определяемый уровень концентраций не позволяет провести анализ полного масс-спектра, результаты идентификации диалкилметилфосфонатов, особенно в пробах почв, требуют дополнительного подтверждения, например, с использованием хроматографических индексов удерживания.

Диалкилметилфосфонаты прекрасно отвечают требованиям, предъявляемым к химическим маркерам ФОВ. Основными их достоинствами как маркеров являются простота извлечения из матриц и возможность прямого селективного газохроматографического определения. В то же время известно [32], что в присутствии воды диалкилметилфосфонаты гидролизуются с образованием моноалкилметилфосфонатов и далее — метилфосфоновой кислоты. Таким образом, как было отмечено выше, именно моноалкилметилфосфонаты и метилфосфоновая кислота могут считаться наиболее «долгоживущими» маркерами ФОВ. Поскольку характер алкильного радикала в молекулах моноалкилметилфосфонатов однозначно указывает на структуру исходного ФОВ, их можно считать индивидуальными химическими маркерами ФОВ, а метилфосфоновую кислоту — групповым маркером.

Нами установлено, что при экстракции метилхлоридом (метод II) метилфосфоновая кислота и ее моноэфиры прак-

тически не извлекаются из водных растворов, причем не только в нейтральной, но и в кислой среде ($\text{pH} = 1\text{—}6$). Если объектом анализа являются метилфосфоновая кислота и моноэфиры, обработка водной пробы метилхлоридом при $\text{pH} 1\text{—}2$ позволяет устранить прочие кислые соединения, которые после силилирования в методах III и IV загрязняют пробу и мешают определению целевых компонентов. Проведение такой процедуры очистки особенно полезно при анализе биологических жидкостей, богатых органическими кислотами.

Наименьшую степень извлечения при экстракции из водных растворов обнаруживает метилфосфоновая кислота. Удовлетворительные результаты ее анализа достигаются при выпаривании водной пробы. Упаривание досуха (метод III) приводит к частичному разложению моноэфиров кислоты и нестабильности их определения. Из этого следует, что для анализа метилфосфоновой кислоты в водных средах оптимальным является метод подготовки III, а для анализа кислых алкилметилфосфонатов — метод IV. В то же время применение метода III проблематично при анализе водных проб больших объемов, поэтому применительно к анализу грунтовых вод, где можно ожидать наличия метилфосфоновой кислоты в низких концентрациях, требуется разработка новых методов анализа, обеспечивающих более низкие пределы обнаружения.

Наиболее перспективным подходом к извлечению из водных сред и концентрированию метилфосфоновой кислоты и ее моноэфиров представляется твердофазная экстракция с использованием модифицированных сорбентов. В [33] сообщается о возможности достижения предела обнаружения 3—10 мкг/л при определении этилового и изопропилового эфиров в грунтовых водах методом твердофазной экстракции на силикагелях, импрегнированных тетраалкиламмониевыми солями, с последующим газохроматографическим анализом с пламенно-фотометрическим детектированием. Пинаколиловый эфир в этих условиях не определяется [33]. Разработка метода, обеспечивающего чувствительное и селективное определение метилфосфоновой кислоты и ее моноэфиров — от этилового до пинаколилового, в рамках одной процедуры, по-видимому, потребует новых технических решений.

При анализе проб на содержание в них ФОВ-маркеров газохроматографическим методом с любыми вариантами детектирования, кроме масс-спектрометрического, важнейшим «средством» их идентификации являются индексы удерживания, особенно в отсутствие стандартных образцов сравнения. В рамках хромато-масс-спектрометрического

анализа измерение индекса удерживания полезно как «подтверждающая» идентификация. Возможен также альтернативный подход, предполагающий предварительную идентификацию неизвестных соединений на основании индексов удерживания с последующим подтверждением с помощью спектральных методов. И, наконец, наименее традиционный, но в ряде случаев весьма эффективный подход — предсказание индексов удерживания неизвестных веществ с помощью расчетных методов.

Удобным способом оценки индексов удерживания являются аддитивные схемы, основанные на принципах структурной аналогии. Индексы удерживания соединений R_Y можно оценить по значениям этих величин их структурных аналогов R_X с использованием инкрементов $\Delta/(X \rightarrow Y)$, которые могут быть рассчитаны даже для соединений иной химической природы [34]. В роли структурных аналогов могут выступать соединения с уже известными индексами удерживания (например, по литературным данным), либо компоненты, ранее достоверно идентифицированные в пробе. Такой подход позволяет не только подтвердить результаты масс-спектрометрической идентификации, но и сделать обоснованные предположения о структурах неизвестных соединений в тех случаях, когда по масс-спектрам их не удастся предсказать даже приблизительно. С использованием предложенного подхода на основании совместного рассмотрения индексов удерживания и масс-спектров электронного удара было идентифицировано 24 соединения из 43 в реакционной смеси, полученной после нейтрализации российского продукта VX щелочно-спиртовыми реагентами [35]. Исходными данными для расчета индексов удерживания продуктов превращений служили эти параметры, характерные для известных продуктов распада и примесей «традиционного» VX [36]. Анализ доступной литературы свидетельствует о том, что состав продуктов превращений российского продукта VX изучен нами впервые. Органические соединения, являющиеся примесями или продуктами превращений вещества VX, идентифицированные в битумно-солевых массах, приведены в табл.2. Здесь указаны значения коэффициента распределения в системе гексан/ацетонитрил ($K_{d(C_6H_{14}/CH_3CN)}$). Эти величины могут быть использованы при выборе оптимального экстрагента для извлечения соответствующих соединений из матриц в режиме целевого анализа. Полный перечень экстрактивных компонентов в системе битумно-солевые массы—вещество VX, в том числе и неидентифицированных, приведен в работе [35]. Установлено, что российский продукт VX не является безусловным аналогом традиционного VX и может претерпевать иные превращения как

по механизмам их протекания, так и по составу образующихся продуктов. По данным зарубежных исследований [37] период полураспада для обоих продуктов в разбавленных водных растворах составляет 12,4 и 4,8 дней, соответственно. Таким образом, вещество VX российского производства более персистентное и, следовательно, еще более опасное.

Поскольку подавляющее большинство исследований, связанных с идентификацией продуктов превращений ФОВ проведено и, по-видимому, будет проводиться в будущем гибридными методами, использующими в качестве модуля разделения газовую хроматографию, хроматографические индексы удерживания остаются наиболее универсальным и, безусловно, необходимым средством для решения таких задач. По нашему опыту, совместная интерпретация параметров, получаемых в рамках только одного инструментального метода (масс-спектров электронного удара и индексов удерживания) может быть не менее эффективной, чем сочетание двух и более различных инструментальных методов.

По современным данным токсическое действие ФОВ не всегда сопровождается или во всяком случае не исчерпывается ингибированием ацетилхолинэстеразы. В свете этих представлений биотесты, основанные на прямом или косвенном определении холинэстеразной активности, не всегда могут дать объективную информацию в биомедицинских исследованиях при изучении последствий воздействия ФОВ на организм. В связи с этим чрезвычайно важной задачей становится разработка надежных и чувствительных методов анализа метилфосфоновой кислоты и ее моноэфиров, которые по данным [25] являются метаболитами ФОВ в биологических средах. Эта задача чрезвычайно сложная, поскольку определению ФОВ-маркеров в биологическом материале должно предшествовать расщепление аддуктов этих соединений с белковыми молекулами. Такие методы анализа, как спектрометрия ионной мобильности, ИК-спектроскопия в режиме нарушенного полного внутреннего отражения и другие, не предусматривающие покомпонентного разделения пробы и прекрасно зарекомендовавшие себя в скрининговом контроле, мало перспективны как для анализа уже известных ФОВ-маркеров, так и для идентификации неизвестных пока метаболитов ФОВ в биосредах. При решении таких задач методы хромато-масс-спектрометрии в сочетании с новыми технологиями разделения, концентрирования и химической модификации чужеродных соединений в биоматрицах, по-видимому, еще долго будут сохранять лидирующие позиции.

Продукты химической нейтрализации российского продукта VX составом, содержащим изобутиловый спирт, идентифицированные хромато-масс-спектрометрическим методом

Соединение	Время удерживания, мин	Индекс удерживания	Главные сигналы масс-спектров, m/z ($I_{отн.}$, %)	$K_{X(C_6H_{14})/CH_3CN}$
NHEt ₂	3,10		74(0.4) 73(17) 72(9) 59(2) 58 (100) 56(4)	
CH ₂ =CHS— <i>i</i> Bu	8,68	847 ± 1	117 (5) 116(48) 101(6) 85(4) 84(5) 83(5) 77(6) 75(4) 74(16) 73(40) 60 (100) 57(56) 56(36) 55(17) 47(17) 45(81)	0,3
HCONEt ₂	11,47	930 ± 1	102(6) 101 (100) 86(35); 73(9) 72(15) 71(3) 58(70) 57(6) 44(32) 42 (12)	
Et ₂ NCH ₂ CH ₂ SH	13,06	976 ± 2	133(2) 116(1) 100(3) 99(1) 87(6) 86 (100) 84(4) 72(7) 58(48) 56(13)	0,8
CH ₂ =CHSCH ₂ CH ₂ NEt ₂	18,86	1144 ± 2	159(0.4) 129(1) 100(1) 88(1) 87(10) 86 (100) 72(2) 59(5) 58(21)	0,32
Et ₂ NCH ₂ CH ₂ S— <i>i</i> Bu	23,57	1292 ± 2	189(0.4) 133(0.4) 117(1) 87(7) 86(100) 58(5) 57(12)	3,1
MePS(O— <i>i</i> Bu) ₂	24,66	1331 ± 1	171(1) 170(1) 169(13) 168(1) 115(5) 114(2) 113 (100) 97(3) 96(3) 95(19) 86(6) 79(7) 77(2) 63(4) 57(17) 47(7)	1,3
Et ₂ NCH ₂ CH ₂ SBu	24,94	1337 ± 1	189(0.6) 117(3) 99(1) 87(6) 86(100) 59(5) 58(10) 57(4)	2,9
MePO(OH)SCH ₂ CH ₂ NEt ₂	27,52	1424 ± 1	179(7) 165(4) 164(41) 107(5) 100(6) 99(13) 86 (100) 84(61) 79(9) 71(19) 70(17) 58(25) 57(36) 56(50)	
Et ₂ NCH ₂ CH ₂ SS— <i>i</i> Bu	29,88	1510 ± 1	221(0.4) 133(0.7) 100(1,2) 87(6,6) 86 (100) 72(2,2) 58(9,5) 56(8,6) 47(2,1)	3,2
CH ₂ =CHS ₃ CH ₂ CH ₂ NEt ₂	31,66	1576 ± 1	210(0,2) 188(0,8) 133(1) 117(4) 99(10) 87(6) 86 (100) 84(15) 72(9) 71(30) 70(17) 61(3,5) 58(17) 57(17) 56(32)	0,08
(Et ₂ NCH ₂ CH ₂) ₂ S	31,86	1584 ± 1	133(2) 132(1) 130(1) 100(6) 99(18) 87(6) 86 (100) 84(3) 72(3) 71(3) 58(12) 57(4) 56(10)	0,60
MePO(O— <i>i</i> Bu)SCH ₂ CH ₂ NEt ₂	34,54	1689 ± 1	230(2) 132(8) 131(6) 116(6) 105(6) 100(16) 99(18) 98(14) 87(8) 86 (100) 84(13) 74(5) 72(6) 70(12) 58(60) 56(22)	
Et ₂ NCH ₂ CH ₂ S ₃ — <i>i</i> Bu	35,77	1740 ± 1	132(9) 100(3) 87(10) 86(100) 84(4) 72(8) 56(19) 47(7)	< 0,1
MePO(S ₃ — <i>i</i> Bu)SCH ₂ CH ₂ NEt ₂	36,76	1782 ± 1	160(3) 117(1) 100(1) 87(7) 86 (100) 58(8) 57(6)	0,30
(Et ₂ NCH ₂ CH ₂) ₂ S ₂	37,61	1818 ± 1	265(0.1) 192(0.1) 165(30) 134(4) 133(5) 132(8) 116(3) 100(10) 87(15) 86 (100) 72(14) 58(20) 56(13)	0,47
(Et ₂ NCH ₂ CH ₂) ₂ S ₃	41,87	2010 ± 1	208(1) 165(2) 126(1) 100(1) 99(2) 87(7) 86 (100) 57(20) 56(15)	> 13
Et ₂ N(CH ₂ CH ₂ S) ₂ (CH ₂) ₂ NEt ₂	42,10	2021 ± 1	292(0.4) 134(2) 131(2) 116(4) 100(3) 99(4) 87(6) 86 (100) 58(13) 56(13)	3,3
MePO(O— <i>i</i> Bu)(CH ₂ CH ₂ S) ₂ NEt ₂	44,28	2128 ± 1	132(2) 114(3) 100(7) 99(3) 87(5) 86 (100) 58(33) 56(16)	

Примечания. 1. В таблицу не включены метилфосфоновая кислота и ее моно- и диизобутиловый эфиры, идентифицированные в битумно-солевых массах.

2. Диэтиламиноэтилметилтиофосфонат — структурный аналог высокотоксичного EA 2192 идентифицирован предположительно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев И.А., Швыряев Б.В., Либерман Б.М., Шелученко В.В., Петрунин В.А., Горский В.Г. Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И.Менделеева), 1995, т. 39, № 4, с. 5—9.
2. Васильев И.А., Швыряев Б.В., Либерман Б.М., Шелученко В.В., Петрунин В.А., Горский В.Г. Там же, 1995, т. 39, № 4, с. 10.
3. Recommended Operating Procedures for Sampling and Analyses in the Verification of Chemical Disarmament. Ed. M. Rautio. The Ministry for Foreign Affairs of Finland, Helsinki. 1994.
4. Киреев А.Ф., Рыбальченко И.В., Савчук В.И., Суворкин В.Н. Ж. аналит. химии, 2002, т. 57, № 6, с. 637.
5. Василевский С.В., Киреев А.Ф., Рыбальченко И.В., Суворкин В.Н. Там же, 2002, т. 57, № №6, с. 597.
6. Киреев А.Ф., Рыбальченко И.В., Савчук В.И., Суворкин В.Н., Тилухов И.А., Хамиди Б.А. Там же, 2002, т. 57, № 8, с. 842.
7. Киреев А.Ф., Рыбальченко И.В., Савчук В.И., Суворкин В.Н., Холстов В.И. Там же, 2000, т. 55, № 9, с. 933.
8. Зенкевич И.Г., Иоффе Б.В. Интерпретация масс-спектров органических соединений. Л.: Химия, 1986, 175 с.
9. Witkiewich Z., Mazurek M., Szule J. J.Chromatogr., 1990, v. 503, p. 293.
10. Kaipamen A., Kostianen O., Riekkola M.I. J. Microcol. Sep., 1992, v. 4, p. 245.
11. Kokko M. J.Chromatogr., 1993, v. 630, p. 231.
12. Kientz C.E. J. Chromatogr. A, 1998, v. 814, p.1.
13. Kuitunen M.I., Hartonen K., Riekkola M.I. J. Microcol. Sep., 1991, № 3, p. 505.
14. Hakkinen V.M.A. J.High Resolut. Chromatogr., 1991, № 14, p. 811.
15. Boniebale E., Debordes L., Coppet L. J. Chromatogr. B, 1996, v. 688, p. 255.
16. Minami M., Hui D.M., Hatsumata M., Inagaki H., Boulet C.A. Ibid., 1997, v. 695, p. 237.
17. Benschop H.P., DeJong L.P.A. Acc. Chem. Res., 1988, № 21, p. 368.
18. Benschop H.P., Konings C.A.G., De Jong L.P.A. J. Amer. Chem. Soc., 1981, v.103, p. 4260.
19. Benschop H.P., Bijleveld E.C. e.a. Anal. Biochem., 1985, v. 151, p. 242.
20. van Es A., Jansen J., Cramers C., Rijks J. J.High Resolut.Chromatogr., 1988, № 11, p. 852.
21. Grob K., Karrer G., Riekkola M.L. J. Chromatogr., 1985, v. 334, p.129.
22. Amirav A., Jing H. Anal. Chem., 1995, v. 67, p. 3305.
23. Inter-Laboratory Comparison (Round Robin) Test for the Verification of Chemical Disarmament. Ed. M. Rautio. F1-F4. Helsinki, 1990—1994.
24. Carrick W.A., Cooper D.B., Muir B. J. Chromatogr. A, 2001, v. 925, p. 241.
25. Katagi M., Nishikawa M., Tatsuno M., Tsuchihashi H. J. Chromatogr., 1997, p.327.
26. D'Agostino P.A., Provost L.R., Lionel R. J. Chromatogr. A, 1995, v. 695, p. 65.
27. Fredricson S.A., Hammerstrom L.G., Hendriksson L., Lakso H.A. J. Mass Spectrom., 1995, v. 30, p. 1133.
28. Савельева Е.И., Радиллов А.С., Кузнецова Т.А., Волюнец Н.Ф. Ж. прикл. химии, 2001, т. 74, № 10, с. 1671.
29. Munro N.B., Talmage S.S., Griffin G.D., Waters L.C., Watson A.P., King J.F., Hauschild V. Environ. Health Perspect., 1999, v. 107, № 12, p. 933.
30. Rohrbaugh D.K. J. Chromatogr. A, 1998, v. 809, p. 131.
31. Мариничев А.Н., Турбович М.Л., Зенкевич И.Г. Физико-химические расчеты на микро-ЭВМ. Справочник. Л.: Химия, 1990, 254 с.
32. Creasy W.R., Stuff J.R., Williams B., Morrissey K., Mays J., Duevel R., Durst H.D. J. Chromatogr., 1997, v. 774, p. 253.
33. Sega G.A., Tomkins B.A., Wayne H.G. Ibid., 1997, v. 790, p. 143.
34. Зенкевич И.Г. Ж. орган. химии, 1992, т. 28, № 9, с. 1827.
35. Savel'eva E.I., Zenkevich I.G., Radilov A.S. 25th Int. Symp. on Capillary Chromatography. Riva del Garda, Italy. May 13—17, 2002. № 09. CD ROM.
36. D'Agostino P.A., Provost L.R., Visentini J. J. Chromatogr., 1987, v. 402, p. 221.
37. Crenshaw M.D., Hayes T.L., Miller T.L., Shannon C.M. J. Appl. Toxicol., 2001, Dec. Suppl. 1, p. 5.