

MEDLINE.RU, ТОМ 21, КЛИНИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ, 18 МАЯ 2020

**ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА КАК ВНУТРЕННИЕ СТАНДАРТЫ ДЛЯ
КОЛИЧЕСТВЕННОГО ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
ХЛОРАЦЕТОФЕНОНА**

¹Иванова М.В., ¹Журавлева И.Б., ¹Троценко Е.М.

*¹Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение
высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической
защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» Министерства обороны
Российской Федерации, 156015, г. Кострома, ул. Горького, 16,
8-4942-39-97-52, varhbz@mil.ru*

Резюме. В статье показана возможность применения газохроматографического количественного анализа хлорацетофенона методом внутреннего стандарта, подобраны оптимальные условия и внутренние стандарты для количественного определения хлорацетофенона.

Ключевые слова: хлорацетофенон, парацетамол, газохроматографический метод, внутренний стандарт

**MEDICINE REMEDIES AS THE INTERNAL STANDARDS FOR THE
QUANTITATIVE GAS CHROMATOGRAPHY OF CHLORACETOPHENONE**

Ivanova M.V., Zhuravleva I.B., Trocenko E.M.

«Timoshenko`s Military academy radiation, chemical and biological protection»

Abstract: In this article was shown the possibility of using gas chromatographic method of quantitative analysis of chloracetophenone by internal standard method, optimal conditions and internal standards for quantitative determination of chloracetophenone are selected.

Keywords: chloratcetofenon, paracetamol, gas-chromatographic method, internal standard

Введение.

Среди многочисленных разновидностей веществ несмертельного действия видное место занимают ирританты – вещества раздражающего действия [1]. Вещества раздражающего действия в военной токсикологии относятся к веществам, временно выводящим из строя личный состав. Хотя формально ирританты относятся к веществам нелетального действия, ранее они рассматривались как боевые отравляющие вещества, способные в определенных условиях приводить к тяжелым поражениям. Высокие концентрации или длительное воздействие веществ раздражающего действия могут привести к различным степеням поражения органов зрения и кожных покровов, а также дыхательной системы вплоть до рефлекторной остановки дыхания [2].

Хлорацетофенон (ХАФ) – один из первых лакриматоров, получивших применение сначала как отравляющее, а затем как полицейское вещество и вещество, используемое в целях самообороны. Кроме того, в связи с рядом особенностей, таких как термическая устойчивость, высокая летучесть, доступность приобретения, простота синтеза в кустарных условиях, не исключается возможность его применения в актах химического терроризма [3]. Следовательно, исследования, направленные на разработку способов и методик как идентификации, так и количественного анализа таких веществ, являются актуальными.

В Указе Президента Российской Федерации от 11 марта 2019 г. № 97 «Об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу» к приоритетным направлениям государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности отнесены, в том числе: разработка методик проведения анализа опасных органических веществ, а также разработка процедур проведения химического анализа токсикантов в окружающей среде [4], что также подтверждает актуальность данного направления исследований.

В целях обнаружения и определения концентрации ХАФ в объектах окружающей среды предложено много способов и средств, основанных, главным образом, на химических методах анализа. В литературе [2] описан ряд реакций, которые могут быть использованы для качественного и (или) количественного обнаружения хлорацетофенона: реакция с пиридином и гидроксидом натрия; реакция нитрования; реакция образования индиго; взаимодействие с 4-(п-нитробензил)-пиридином (в спиртовом растворе в присутствии диметилформамида); реакция с нитропруссидом натрия; реакция с полинитроароматическими соединениями.

Наиболее широко применяется для обнаружения и определения концентрации ХАФ реакция с полинитроароматическими соединениями, среди которых чаще всего используется мета-динитробензол. Достоинством этого способа обнаружения ХАФ является его простота, доступность реагентов и высокая чувствительность обнаружения ХАВ, достигающая до $(2-3) \cdot 10^{-4}$ мг/см³ для экстракта и $5 \cdot 10^{-4}$ мг/дм³ для исследуемого воздуха. Этот способ реализован в индикаторной трубке ИТ-15, входящей в комплектацию войсковых приборов химической разведки (ВПХР, ППХР). Для обнаружения и определения ХАФ в объектах окружающей среды разработаны методики колориметрического анализа [5].

Опубликован способ хемилюминесцентного анализа ХАФ [6], основанный на определении интенсивности хемилюминесцентного свечения пробы, обработанной последовательно щелочным раствором люминола и раствором гемина. Диапазон определяемых концентраций ХАФ от $1,0 \cdot 10^{-1}$ до $1,0 \cdot 10^{-5}$ мг/см³.

В 2015 году разработан и аттестован ряд методик измерений содержания ХАФ в различных объектах газохроматографическим методом [7]. Данные методики позволяют производить измерения массовой концентрации ХАФ в экстракте/растворе по методу абсолютной градуировки на хроматографе с детектором электронного захвата.

Указанные методики имеют одно существенное ограничение – необходимость предварительной градуировки хроматографа, что требует наличия стандартного образца или химически чистого ХАФ, который относится к группе физиологически активных веществ-ирритантов. Кроме того, детекторами электронного захвата комплектуется относительно небольшое количество газовых хроматографов.

Кроме абсолютной градуировки для количественного газохроматографического анализа применяется метод внутреннего стандарта, достоинствами которого являются отсутствие необходимости в воспроизводимом по величине вводе пробы и малая зависимость результатов измерений от нестабильности работы хроматографа и детектора, так как эти факторы в равной мере влияют на определяемое и стандартное соединение. Еще одним достоинством данного метода является возможность проведения количественного анализа без предварительной градуировки прибора с использованием стандартного образца анализируемого вещества.

Целью работы является разработка методики количественного газохроматографического анализа ХАФ, не требующей обязательного наличия образца химически чистого вещества, с использованием универсального и широко распространенного пламенно-ионизационного детектора.

Поставленная цель достигается путем решения следующих задач:

- 1 Подбор оптимальных условий газохроматографического анализа;
- 2 Выбор внутреннего стандарта;
- 3 Определение относительного массового градуировочного коэффициента.

Вещества, используемые в качестве внутреннего стандарта (ВС), должны соответствовать следующим критериям: быть инертными к компонентам пробы; иметь способность смешиваться с компонентами; иметь пик с хорошим разрешением; полностью хроматографически разделяться с определяемыми соединениями; иметь небольшие различия в параметрах удерживания; соответствовать требованиям безопасности (3 или 4 классы опасности).

Оптимально в качестве ВС использовать вещества, которые широко распространены и доступны, в том числе, лекарственные средства.

В ходе проведенного анализа литературных данных [8] в качестве возможных ВС отобраны парацетамол (N-(4-гидроксифенил)ацетамид), и диметилсульфоксид (ДМСО). Отдельные физико-химические свойства перечисленных веществ и ХАФ представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Некоторые физико-химические свойства ХАФ и внутренних стандартов

Свойства	Вещества		
	ХАФ	парацетамол	ДМСО
Молекулярная масса	154,50	151,16	78,13
Температура плавления, °С	59,00	168,00-172,00	6,00
Температура кипения, °С	247,00	более 500,00	100,00
Растворимость в различных растворителях, (г на 100 см ³):			
воде	м.р. (0,1%)	1,4.	р.
этаноле	р.	14,4	р.
эфире	р.	м.р.	р.
бензоле	—	н.р.	—
Примечание – р. – растворимо, н. р. – практически нерастворимо, м. – малорастворимо			

Метод. В ходе дальнейшей работы произведена градуировка газового хроматографа Agilent 6890N с пламенно-ионизационным детектором и рассчитаны относительные массовые градуировочные коэффициенты ХАФ по каждому из веществ, рассматриваемых в качестве ВС.

С этой целью проводили калибровку газового хроматографа методом абсолютной градуировки. С использованием стандартной программы сбора и обработки

хроматографической информации ChemStation измеряли на хроматограмме площади пиков ХАФ и ВС. Измерения выполнялись при следующих режимных параметрах хроматографа:

- температура термостата колонок 40 °С, изотерма 1 минута;
- скорость нагрева – 15 °С/мин. до 260 °С;
- температура испарителя 230 °С;
- коэффициент деления потока 20:1;
- температура детектора 270 °С;
- скорость потока газа-носителя 1,0 см³/мин;
- скорость потока воздуха 300 см³/мин;
- скорость потока водорода 30 см³/мин;
- капиллярная колонка HP-5MS 30 м D-0,32 мм F- 0,25 мкм;
- объем пробы 1 мм³.

Результаты. При этих условиях на газовом хроматографе Agilent 6890N с пламенно-ионизационным детектором получены хроматограммы растворов ХАФ и ВС в хлористом метиле (рисунок 1). Из хроматограммы видно, что пики веществ хорошо разделяются, времена выхода компонентов составляют: ДМСО – 4,1±0,2; ХАФ – 8,7±0,1; парацетамол -11,9±0,1;

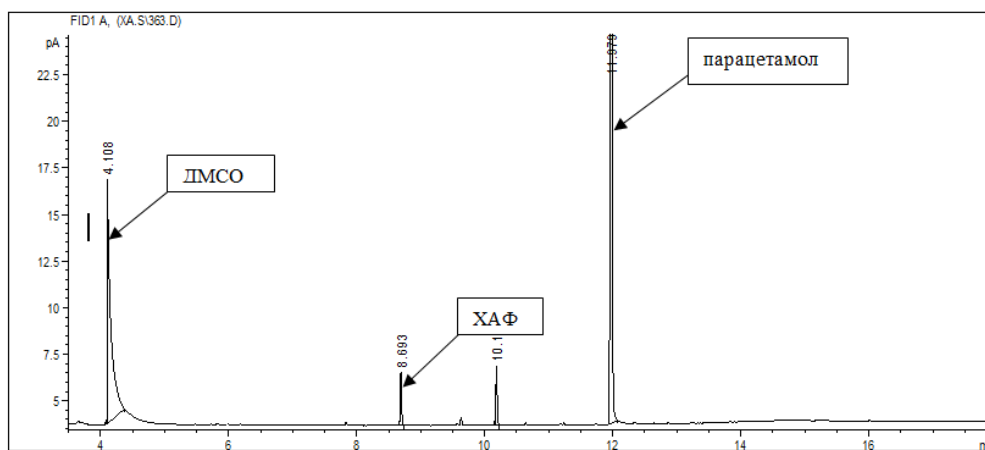


Рисунок 1 – Хроматограмма раствора хлорацетофенона и внутренних стандартов в хлористом метиле

Данные измерений представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Данные измерений градуировочных растворов ХАФ для концентраций от 5·10² до 1 мкг/см³ и внутренних стандартов с концентрацией 50 мкг/см³ при n=6

Концент- рация	Внутренний стандарт	Площадь пика, отн. ед.						Ср. значение,	S ₁	ε, отн.	δ I, %
		1	2	3	4	5	6				

ХАФ, мкг/мл								отн. ед.		ед.	
1	ДМСО	61,9	63,2	62,7	60,8	63,9	64,1	62,77	1,25	1,32	2,10
	ХАФ	2,5	2,6	2,4	2,4	2,4	2,8	2,52	0,16	0,17	6,68
	парацетамол	81,3	81,6	80,2	80,5	81,8	81,8	81,20	0,69	0,72	0,89
10	ДМСО	61,1	66,4	59,5	62,1	62,7	62,1	62,32	2,29	2,41	3,86
	ХАФ	24,3	24,2	24,5	24,0	24,3	24,1	24,23	0,18	0,18	0,76
	парацетамол	81,2	80,9	81,1	80,9	82,2	82,3	81,43	0,64	0,68	0,83
100	ДМСО	63,9	64,1	59,5	64,1	62,7	59,6	62,32	2,21	2,31	3,71
	ХАФ	235,5	236,2	235,2	235,1	237,5	234,2	235,62	1,13	1,18	0,50
	парацетамол	80,4	81,3	81,1	80,9	80,4	81,3	80,90	0,41	0,44	0,54
500	ДМСО	62,4	59,4	62,4	61,1	62,4	60,8	61,42	1,22	1,28	2,09
	ХАФ	1176,2	1178,4	1175,3	1178,4	1176,3	1175,9	1176,75	1,32	1,39	0,12
	парацетамол	81,2	80,9	81,3	81,6	81,8	81,8	81,43	0,36	0,38	0,47

Примечания

1) Значение коэффициента Стьюдента 2,57 (при $n=6$).

2) S_1 – дисперсия, ε – абсолютная погрешность, δI – относительная погрешность

На основании данных измерений, представленных в таблице 2, построены градуировочные зависимости в координатах: десятичные логарифмы отношений площади пиков ХАФ к площади пиков ВС от десятичных логарифмов отношений концентраций ХАФ и ВС. Градуировочные зависимости для концентраций от 1 до $5 \cdot 10^2$ мкг/см³ показаны на рисунке 2.

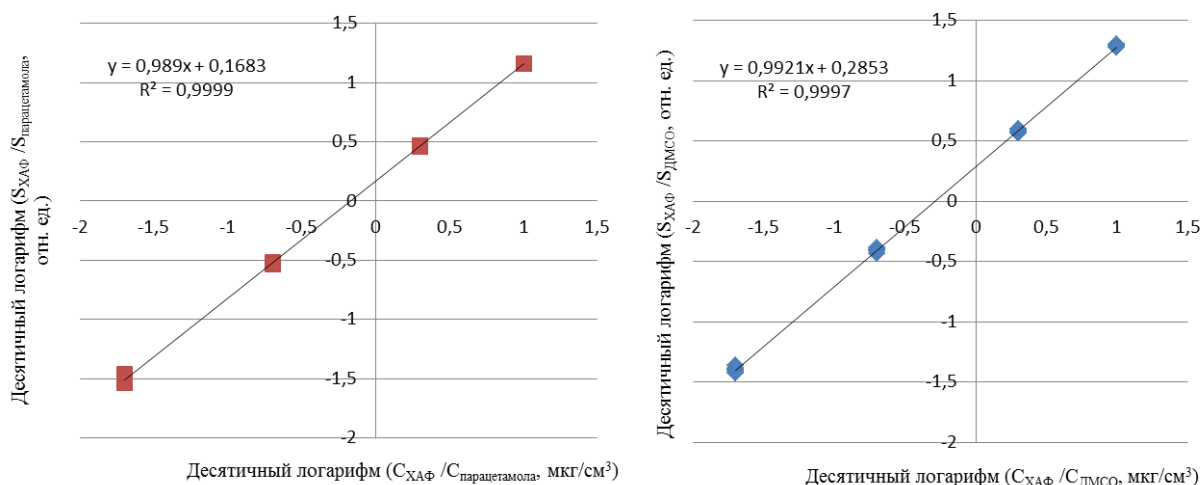


Рисунок 2 – Градуировочные зависимости хлорацетофенона и внутренних стандартов (ДМСО и парацетамола) для концентраций от 1 до $5 \cdot 10^2$ мкг/см³

По градуировочным графикам, представленным на рисунке 2, видно, что в выбранных диапазонах концентраций зависимость логарифмов отношений площадей пиков ХАФ и ВС от десятичных логарифмов отношений их концентраций носит

линейный характер, при этом коэффициент аппроксимации значительно больше 0,9 стремится к 1, что доказывает линейность графиков в выбранном диапазоне концентраций.

На основании значений площадей пиков ХАФ и ВС рассчитывали относительные массовые градуировочные коэффициенты для каждой концентрации по формуле:

$$f_{\text{ХАФ}} = \frac{C_{\text{ХАФ}} \cdot S_{\text{ВС}}}{C_{\text{ВС}} \cdot S_{\text{ХАФ}}} \quad (1)$$

где $C_{\text{ХАФ}}$, $C_{\text{ВС}}$ – массовые концентрации ХАФ и ВС, мкг/см³;

$S_{\text{ХАФ}}$, $S_{\text{ВС}}$ – соответствующие им площади пиков ХАФ и ВС, отн. ед.

Затем проводили математическую обработку полученных значений. Результаты вычислений представлены в таблице 3.

Из данных, представленных в таблице 3, видно, что рассчитанные величины относительных массовых градуировочных коэффициентов имеют относительную погрешность от 2,63 % до 3,68 % для всех апробированных концентраций ХАФ и ВС, следовательно, являются достоверными.

Используя рассчитанные значения относительных массовых градуировочных коэффициентов, возможно определить концентрацию ХАФ в различных пробах (воды, почвы, воздуха, смывы с поверхности и т.п.). Для этого необходимо экстрагировать ХАФ из пробы хлористым метиленом с добавлением точного количества раствора одного из внутренних стандартов с известной концентрацией и провести анализ методом газовой хроматографии в условиях, указанных выше.

Таблица 3 – Результаты вычислений относительного массового градуировочного коэффициента

Показатель		Значения относительного массового градуировочного массового коэффициента	
		парацетамол	ДМСО
Массовая концентрация компонентов ГР, мкг/см ³	5·10 ²	0,520	0,690
	10 ²	0,530	0,690
	10	0,510	0,670
	1	0,500	0,640
Среднее значение коэффициента		0,520	0,670
Среднеквадратичное отклонение		0,013	0,023
Относительная ошибка, %		2,630	3,680

При использовании метода внутреннего стандарта особое внимание следует

обратить на точное воспроизведение не только условий анализа, но и конфигурации прибора – тип детектора, характеристики капиллярной колонки, т.к. эти факторы могут оказывать влияние на величину хроматографического отклика, а, следовательно, и на значение относительного массового градуировочного коэффициента.

После окончания анализа фиксируют площади пиков ХАФ и введенного в пробу ВС. Затем рассчитывают содержание хлорацетофенона в анализируемом экстракте ($C_{\text{ХАФ}}$, мкг/см³) по формуле:

$$C_{\text{ХАФ}} = \frac{f_{\text{ХАФ}} \cdot C_{\text{ВС}} \cdot S_{\text{ХАФ}}}{S_{\text{ВС}}} \quad (2)$$

где, $f_{\text{ХАФ}}$ – относительный массовый градуировочный коэффициент хлорацетофенона по введенному в экстракт ВС (см. табл. 3);

$C_{\text{ВС}}$ – массовая концентрация раствора ВС, мкг/см³;

$S_{\text{ХАФ}}$, $S_{\text{ВС}}$ – площади пиков ХАФ и ВС соответственно, отн. ед.

После этого необходимо рассчитать концентрацию хлорацетофенона в анализируемой пробе.

Таким образом, использование метода внутреннего стандарта при количественном газохроматографическом анализе физиологически активных веществ не требует наличия стандартных образцов токсичных химикатов для градуировки прибора, минимизирует влияние объективных и субъективных факторов на результаты.

Внутренние стандарты, подобранные при выполнении работы, являются достаточно распространёнными веществами. Для оперативного получения аналитической информации с целью идентификации токсичных химикатов и их количественной оценки при возникновении чрезвычайных ситуаций, связанных с применением данных веществ в террористических или военных целях, мы предлагаем использовать потенциал стационарных гражданских лабораторий, имеющих в своем распоряжении газовые хроматографы утвержденного типа, прошедшие обязательную поверку. По официальным данным Росстандарта, действующих газовых хроматографов, удовлетворяющих данным требованиям, насчитывается 1265 единиц [8]. Важно отметить тот факт, что размещение таких комплексов охватывает всю территорию Российской Федерации.

Используя результаты, полученные в ходе выполнения работы, в экстренных ситуациях в сжатые сроки может быть проведена количественная оценка ХАФ в объектах окружающей среды без использования стандартных образцов физиологически активного вещества с привлечением аналитического потенциала как военных, так и гражданских лабораторий.

Литература

1. Франке З. Химия отравляющих веществ. Том I. Монография. [Текст]. М.: «Химия», 1973. 440 с.
2. Франке З. Химия отравляющих веществ. Том II. Монография. [Текст]. М.: «Химия», 1973. 408 с.
3. Антипов В.Б. К вопросу о разработке и применении нелетальных средств поражения на химической основе / Ежемесячный журнал. М.: Военная мысль, 2009. № 9. С. 54-61.
4. Указ Президента РФ от 11 марта 2019 г. № 97 «Об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу» [Электронный ресурс]. Электрон. версия печ. публ. – Доступ с сайта справ.-правовой системы «КонсультантПлюс». URL: <http://www.consultant.ru>.
5. Дмитриев М.Т., Казнина Н.И., Пинегина И.А. Санитарно-химический анализ загрязняющих веществ в окружающей среде. М.: Химия, 1989. 368 с.
6. Дружинин А.А. Способ хемилюминесцентного определения ω -хлорацетофенона [Электронный ресурс] / патентообладатель ФГУ «27 Научный центр Министерства обороны Российской Федерации». – заявл. 12.10. 07; опубл. 10.04.10. Электрон. версия печ. публ. Доступ с сайта Патентный поиск. URL: <http://www.findpatent.ru/>
7. РОССТАНДАРТ. Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений [Электронный ресурс]. URL: <http://fundmetrology.ru/>
8. Справочник химика. Том II. Основные свойства неорганических и органических соединений / Изд. 3-е испр. // Под ред. Б.П. Никольского. Л.: Издательство «Химия», Ленинградское отделение, 1971. 1168 с.

References

1. Franke Z. Chemical of toxic substances. Volume I. Monograph. [Text]. М.: "Chemistry", 1973. 440 pages. [In Russian].
2. Franke Z. Chemical of toxic substances. Volume II. Monograph. [Text]. М.: "Chemistry", 1973. 408 pages. [In Russian].
3. Antipov, V.B. On the development and use of non-lethal weapons on a chemical basis [Text]: Monthly magazine/Military thought//V.B. Antipov, S.V. Novykov. Moscow: Military thought. № 9, 2009. Page 54-61.

4. Decree of the President of the Russian Federation No. 97 of 11 March 2019 "On the Foundations of the State Policy of the Russian Federation in the Field of Chemical and Biological Safety for the Period up to 2025 and Further Perspective" [Electronic Resource]. Electron. version furnace. Item - Access from the Help-Legal System Site. URL: <http://www.consultant.ru>.

5. Dmitry, M.T. Sanitary and chemical analysis of pollutants in the environment [Text]/M.T. Dmitry, N.I. Kaznina, I.A. Pinegina. M.: Chemistry, 1989. 368 pages. [In Russian].

6. Stalemate. SU 2386128, MPC G01N31/22, G01N21/76. A method for chemiluminescent determination of [Electronic resource] (Druzhinin A.A.) [et al.]; Patent holder of the Federal State University "27 Scientific Center of the Ministry of Defense of the Russian Federation." 12.10. 07; опубл. 10.04.10. Electron. version furnace. публ. Access from Patent Search. URL: <http://www.findpatent.ru/>

7. ROSSTANDART. Federal Information Fund for Uniformity of Measurements [Electronic Resource]. URL: <http://fundmetrology.ru/>

8. Reference book by the chemist. Vol. II. Basic properties of inorganic and organic compounds/Ed. 3rd use//Under ed. B.P. Nikolsky. L.: Chemistry Publishing House, Leningrad Branch, 1971. 1168 pages. [In Russian].