

На правах рукописи



Шачнева Мария Дмитриевна

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ *БИС*(2-ХЛОРЕТИЛ)СУЛЬФИДА И ПРОДУКТОВ ЕГО
ТРАНСФОРМАЦИИ В СТРОИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛАХ И
БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦАХ МЕТОДОМ ТАНДЕМНОЙ ГАЗОВОЙ
ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ**

Специальность 1.4.2 – Аналитическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

Санкт-Петербург
2022

Работа выполнена в Федеральном государственном унитарном предприятии «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» Федерального медико-биологического агентства

Научный руководитель **Савельева Елена Игоревна** – доктор химических наук, заведующая лабораторией аналитической токсикологии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России

Официальные оппоненты: **Рыбальченко Игорь Владимирович** – доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУ «27 Научный центр» Минобороны Российской Федерации

Темердашев Азамат Зауалевич – доктор химических наук, доцент, профессор ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»

Защита диссертации состоится 6 октября 2022 г. в 14–00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.320.05, созданного на базе ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», по адресу: 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, д. 149, ауд. 3030Л.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет», на сайтах ВАК Министерства науки и высшего образования РФ <http://vak.ed.gov.ru> и ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет» <http://www.kubsu.ru>.

Автореферат разослан « » 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Киселева
Наталья Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. В 2017 г было завершено уничтожение химического оружия в Российской Федерации. Необходимость перепрофилирования выведенных из эксплуатации предприятий по уничтожению химического оружия (УХО) обозначила проблему выделения элементов инженерной инфраструктуры, не имеющих признаков контакта с компонентами химического оружия и, в частности, *бис*(2-хлорэтил)сульфидом (сернистым ипритом). Существующие методики нацелены на определение в образцах строительных материалов только *бис*(2-хлорэтил)сульфида, но не продуктов его трансформации, не позволяют в реальные сроки с высокой чувствительностью проводить анализ большого количества образцов и не охватывают все необходимые типы матриц. Санитарно-химическое обследование элементов инфраструктуры бывших предприятий УХО на этапе подготовки к перепрофилированию требует разработки экспрессной и надежной процедуры контроля содержания *бис*(2-хлорэтил)сульфида и стабильных продуктов его конверсии в строительных образцах различного матричного состава.

Среди затопленного и захороненного в неустановленных местах химического оружия преобладает *бис*(2-хлорэтил)сульфид. Это обуславливает опасность непреднамеренного контакта с ним при различных видах хозяйственной деятельности. Воздействие *бис*(2-хлорэтил)сульфида на человека и животных устанавливают по обнаруженным и идентифицированным продуктам его метаболизма (биомаркерам) в биообразцах. Продукты гидролитической биотрансформации *бис*(2-хлорэтил)сульфида быстро выводятся с мочой, поэтому предпочтение отдается долгоживущим биомаркерам – аддуктам *бис*(2-хлорэтил)сульфида с белками плазмы крови и гемоглобином. Практикой верификационной деятельности с учетом обязательств по Конвенции об уничтожении ХО, равно как и санитарно-химическими обследованиями бывших предприятий по УХО, востребованы методики, применимые к анализу различных матриц и обеспечивающие надежную идентификацию маркеров токсичных химикатов (ТХ).

При определении следовых концентраций летучих или способных образовывать летучие производные соединений в матрицах сложного состава газовая хроматография с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС/МС) представляется методом выбора ввиду минимальных матричных влияний и отсутствия ограничений, связанных с низкой эффективностью электрораспылительной ионизации слабополярных соединений. Разработка высокочувствительных и надежных химико-аналитических процедур, охватывающих определение *бис*(2-хлорэтил)сульфида и стабильного продукта его конверсии в конструкционных материалах различного матричного состава, а также долгоживущих метаболитов *бис*(2-хлорэтил)сульфида в биологических образцах, является чрезвычайно актуальной задачей. Разрабатываемые процедуры нацелены на определение свободного *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в объектах техногенной среды, а также регенерированного из аддуктов с белками плазмы

бис(2-хлорэтил)сульфида и алкилированного валина (фрагмента гемоглобина) в биопробах.

Цель работы – разработка аналитических схем определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида и продуктов его трансформации в строительных материалах и биомедицинских пробах методом тандемной газовой хроматомасс-спектрометрии.

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

1. Разработка унифицированного подхода к определению *бис*(2-хлорэтил)сульфида и стабильного продукта его нейтрализации 1,4-дитиана в смывах с поверхностей технологического оборудования и пробах конструкционных материалов.

2. Установление особенностей применения методик определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дитиана при анализе проб с бывшего объекта по уничтожению химического оружия на этапе его перепрофилирования.

3. Разработка и апробация методики определения аддукта *бис*(2-хлорэтил)сульфида с глобином – N-[2-[(гидроксиэтил)тио]этил]-валина (HETE-Val) в эритроцитах крови.

4. Разработка методики определения регенерированного из состава белковых аддуктов *бис*(2-хлорэтил)сульфида в плазме крови.

5. Апробация методики определения регенерированного из состава белковых аддуктов *бис*(2-хлорэтил)сульфида при разработке сценария и подготовке биопроб для международного квалификационного теста Организации по запрещению химического оружия (ОЗХО).

Научная новизна. Разработана унифицированная методика одновременного определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида и стабильного продукта его трансформации 1,4-дитиана в объектах строительных конструкций и инженерной инфраструктуры, позволяющая определять аналиты в образцах различного матричного состава на уровне 0,7-0,9 нг/г (0,007-0,009 ПДК). Оценены степени извлечения аналитов и матричные эффекты при их определении в конструкционных материалах и смывах с поверхностей.

Разработана методика определения дериватов аддукта *бис*(2-хлорэтил)сульфида с глобином методом ГХ-МС/МС в режимах отрицательной химической ионизации (ОХИ) и ионизации электронами (ИЭ), реализуемая в идентичных условиях пробоподготовки и хроматографического разделения.

Разработана методика определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида, регенерированного из состава белковых аддуктов плазмы крови, позволившая оценить способность алкилированных *бис*(2-хлорэтил)сульфидом белков плазмы к регенерированию при различных условиях хранения образцов плазмы.

Практическая значимость работы. Методики определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дитиана в смывах с поверхностей и образцах строительных конструкций и инженерной инфраструктуры применены при анализе проб с бывшего объекта по уничтожению химического оружия.

Методики определения биомаркеров *бис*(2-хлорэтил)сульфида в биообразцах включены в сборник рабочих процедур, используемых Лабораторией химико-аналитического контроля и биотестирования ФГУП «НИИ ГПЭЧ» в международных квалификационных тестах ОЗХО. Методика определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида, регенерированного из состава белковых аддуктов плазмы крови, применена при разработке сценария 6-го (2021 г.) международного квалификационного теста ОЗХО по анализу биомедицинских проб, а также для контроля стабильности разосланных участникам теста образцов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Унифицированные подходы к определению *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дифениламина в смывах с поверхностей и измельченных образцах конструкционных материалов различного матричного состава для оценки возможности вторичного использования инфраструктуры бывших предприятий по уничтожению химического оружия.

2. Определение аддукта *бис*(2-хлорэтил)сульфида с глобином методами ГХ-МС/МС-ИЭ и ГХ-МС/МС-ОХИ при установлении факта воздействия *бис*(2-хлорэтил)сульфида на организм в режиме ретроспективного анализа.

3. Процедура определения регенерированного из состава белковых аддуктов плазмы крови *бис*(2-хлорэтил)сульфида и обоснование его применимости в качестве стабильного биомаркера экспозиции при различных условиях хранения биопроб.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Достоверность результатов исследований подтверждена значительным объемом экспериментальных исследований, значимостью выборки анализируемого материала, использованием современных методов исследования и статистической обработки данных, согласованностью теоретически ожидаемых и экспериментально полученных данных.

Апробация работы. Результаты диссертационного исследования представлены и обсуждены на: Всероссийской научной конференции «Медико-биологические проблемы обеспечения химической безопасности Российской Федерации» (2017 г., Санкт-Петербург); IV Всероссийской конференции с международным участием «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (2020 г., Краснодар); V Международной конференции «Актуальные научные и научно-технические проблемы обеспечения химической безопасности» (2020 г., Казань); 11-й Всероссийской Научной конференции и школе «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (2021 г., Новосибирск); VI Всероссийском симпозиуме с международным участием «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии» (2021 г., Краснодар); Всероссийском симпозиуме и школе-конференции молодых ученых «Физико-химические методы в междисциплинарных экологических исследованиях» (2021 г., Севастополь).

Публикации. По результатам проведенных исследований опубликованы 5 статей в рецензируемых научных изданиях, в том числе 4 – рекомендованных ВАК РФ

журналах по специальности 1.4.2 – аналитическая химия, а также 6 тезисах докладов в материалах научных конференций.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (глава 2), результатов и их обсуждения (глава 3), заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 116 страницах машинописного текста, содержит 30 рисунков и 17 таблиц, список использованных источников – 127 наименований.

Личный вклад автора. Соискателем выполнены экспериментальные и теоретические исследования по разработке и определению *бис*(2-хлорэтил)сульфида и продуктов его (био)трансформации в пробах различного происхождения. Формулировка целей и задач исследования, интерпретация экспериментальных данных, систематизация результатов исследования и оформление публикаций соискателем выполнены совместно с научным руководителем.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность работы, сформулированы цель и задачи, научная новизна и практическая значимость диссертационного исследования, сформулированы основные положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы рассмотрены основные пути трансформации *бис*(2-хлорэтил)сульфида в окружающей среде, объектах техногенного происхождения, организме человека и животных. Изложены основные способы пробоподготовки и методы определения продуктов (био)трансформации *бис*(2-хлорэтил)сульфида. Представлено обоснование выбора ГХ-МС/МС в качестве оптимального метода определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида и маркерных продуктов его трансформации.

В экспериментальной части описаны объекты и методы исследования, реактивы и материалы. Объектами анализа были образцы строительных материалов и инженерной инфраструктуры, а также биологические жидкости человека, содержащие искусственные добавки определяемых соединений.

Для проведения экспериментальных исследований в работе использовали следующее аналитическое оборудование:

– газовый хроматограф модели 7890А с масс-селективным детектором с тройным квадруполем модели 7000 фирмы Agilent Technologies, оснащенный источником химической ионизации или источником ионизации электронами;

– газовый хроматограф GC-2010 Plus с масс-селективным детектором с тройным квадруполем GCMS-TQ8040 Shimadzu, оснащенный источником ионизации электронами.

В работе использовали следующие реактивы и материалы: *бис*(2-хлорэтил)сульфид (ГСО 8248-2003), 1,4-дигидроксибензол (Sigma Aldrich), нафталин-d₈ (≥98 %, Sigma Aldrich), N-[2-[(гидроксиэтил)тио]этил]-валин (≥95 %, синтезирован в лаборатории органического синтеза ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России), ацетонитрил, сорт «0» (ТУ 2634-002-54260861-2013), ацетон (ГОСТ 2603-79), диэтиловый эфир (ТУ 2600-001-43852015-10), 2-хлорпропан (Sigma Aldrich), гексан (ТУ 2631-

158-44493179-13), формамид, Ч (ТУ 6-09-3884-84), пиридин, ЧДА (ГОСТ 13647-78), толуол, ОСЧ (ТУ 2361-065-44493179-01), метанол, ХЧ (ГОСТ 6995-77), соляная кислота (ГОСТ 14261-77), хлористый метилен LiChrosolv (Merck Millipore), магниевый серноокислый 7-водный, ХЧ (ГОСТ 452377), пентафторфенил изотиоцианат (Sigma), гептафтормасляный ангидрид (Fluka), натрий углекислый, безводный, ХЧ (ГОСТ 83-79), натрий хлористый, ЧДА (ГОСТ 4233-77), смесь n-алканов C₅-C₂₄ (Supelco), фильтр вакуумный Bottle top Rapid-Flow Nalgene (0,2 мкм, Thermo Fisher Scientific).

В третьей главе (результаты и их обсуждение) представлены этапы разработки методик определения бис(2-хлорэтил)сульфида и продуктов его трансформации в смывах с поверхностей производственного оборудования, образцах строительных конструкций и инженерной инфраструктуры, эритроцитарной массе и плазме крови. Обоснованы условия пробоподготовки, хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования бис(2-хлорэтил)сульфида и продуктов его трансформации методом ГХ-МС/МС. Представлены результаты апробации разработанных методик при анализе проб, отобранных на бывшем объекте по уничтожению химического оружия; при анализе образцов цельной крови, *in vitro* экспонированной бис(2-хлорэтил)сульфидом; плазмы крови при разработке сценария 6-го международного квалификационного теста ОЗХО по анализу биомедицинских проб и при контроле стабильности биообразцов, разосланных лабораториям-участникам.

Разработка методик определения бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в смывах с поверхностей и измельченных образцах конструкционных материалов

1,4-дителиан является наиболее стабильным в ряду продуктов уничтожения иприта и ипритно-люизитных смесей и, в силу ряда физико-химических свойств, может быть охарактеризован как универсальный маркер. Одновременное определение бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана повышает надежность ретроспективного анализа и позволяет устанавливать загрязненность контролируемых объектов не только бис(2-хлорэтил)сульфидом, но и реакционными массами от его уничтожения. Оба вещества являются персистентными, слабополярными, умеренно летучими. Техникou выбора для их определения в сложных матрицах является ГХ-МС/МС в режиме ионизации электронами.

Оптимальные условия хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования устанавливали с использованием стандартных растворов бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана методом ГХ-МС-ИЭ в режиме сканирования по полному ионному току в диапазоне m/z 40-200. В масс-спектре бис(2-хлорэтил)сульфида наиболее интенсивными являются ионы с m/z 158 [M]⁺ и 109 [M-CH₂Cl]⁺, соответствующие молекулярному иону [C₄H₈SCl₂]⁺ и фрагменту [C₃H₆SCl]⁺. В масс-спектре 1,4-дителиана – ион с m/z 120 [M]⁺, соответствующий молекулярному иону [C₄H₈S₂]⁺. Для выбранных ионов регистрировали индуцированные соударениями масс-спектры диссоциации в диапазоне энергий от 3

до 12 эВ с шагом 3 эВ. Оптимальной энергии соударения соответствовала максимальная интенсивность аналитического сигнала (площадь пика) по характеристичным переходам. Структуры продукт-ионов, образующихся при фрагментации молекулярного иона *бис*(2-хлорэтил)сульфида с m/z 158 при энергии соударений 3 эВ, представлены на рисунке 1. Наиболее интенсивный пик принадлежит иону с m/z 109. При фрагментации иона с m/z 109 при энергии 6 эВ образуются продукт-ионы с m/z 63 $[\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}]^+$ – наиболее интенсивный пик, m/z 45 $[\text{SCH}]^+$ и m/z 73 $[\text{C}_3\text{H}_5\text{S}]^+$.

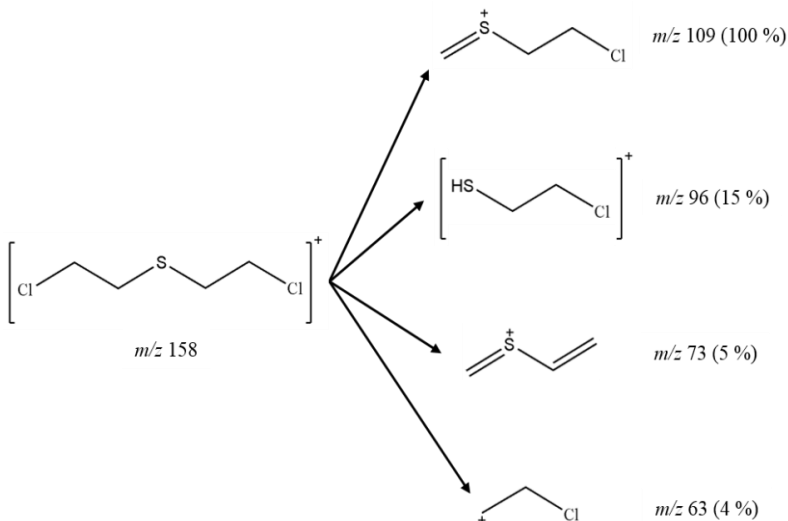


Рисунок 1 – Продукт-ионы, образующиеся при фрагментации молекулярного иона *бис*(2-хлорэтил)сульфида с m/z 158 при энергии соударений 3 эВ

При фрагментации молекулярного иона 1,4-дителиана с m/z 120 образуются продукт-ионы с m/z 105 $[\text{C}_3\text{H}_5\text{S}_2]^+$ и m/z 61 $[\text{C}_2\text{H}_5\text{S}]^+$. По результатам проведенных исследований установили оптимизированные параметры детектирования *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана, табл. 1.

Таблица 1 – Параметры детектирования аналитов методом ГХ-МС/МС

Определяемое соединение	MRM-переход (энергия соударений, эВ)	Время удерживания, мин	RI, ед.инд.
<i>бис</i> (2-хлорэтил)сульфид	109 → 63 (6); 158 → 109 (3)	9,2	1178 ± 2
1,4-дителиан	120 → 61 (6); 120 → 105 (3)	7,4	1070 ± 2

Линейные индексы удерживания (RI) аналитов рассчитали по данным анализа стандартных растворов 1,4-дителиана и *бис*(2-хлорэтил)сульфида с внесением смеси *n*-алканов $\text{C}_5\text{-C}_{24}$ в режиме сканирования по полному ионному току в диапазоне m/z от 45 до 400.

Анализ смывов с поверхностей для контроля остаточного загрязнения оборудования и строительных конструкций

Поверхности оборудования и инфраструктуры при оценке загрязнения токсичными веществами путем анализа смывов не повреждаются, а установленные уровни загрязнения отражают опасность контакта с токсичными веществами и возможность их эмиссии в окружающую среду. При этом неопределенность анализа связана преимущественно с зависимостью степени извлечения аналита с поверхности от текстуры и химической природы материала.

Взятие смывов с поверхностей исследуемых объектов осуществляли тампонами, изготовленными из отрезков медицинской марли 10×10 см, промытых растворителями и высушенных. При этом извлечение целевых веществ первоначально происходит в тампон, а затем в экстрагирующий растворитель. Оба процесса могут сопровождаться потерями аналитов, поэтому тампоны для взятия смывов также следует рассматривать как матрицу, способную сорбировать определяемые соединения. Для определения степеней извлечения бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дифениламина из марлевых тампонов, содержащих по 50 нг каждого вещества, проводили их одно-, двух- и трехкратную экстракцию хлористым метиленом и анализировали сконцентрированные до объема 0,2 мл экстракты методом ГХ-МС/МС.

Оптимальным режимом была выбрана двукратная экстракция, при которой степень извлечения бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дифениламина составила 86 % и 65 % соответственно. При трехкратной экстракции наблюдали более низкие степени извлечения, вероятно, обусловленные потерями аналитов при концентрировании экстрактов. Матричный фактор при определении бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дифениламина в экстрактах из марлевых тампонов в среднем составил 60-80 %, количество стадий экстракции не оказывало существенного влияния на данный показатель.

Для определения доли извлекаемой формы бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дифениламина были выбраны три типа материалов: плитка ПВХ, ламинат и металлические пластины. На поверхность площадью 1 дм² наносили раствор бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дифениламина в хлористом метиле для достижения концентрации 100 нг/дм² по каждому веществу. Оставляли образцы в вытяжном шкафу на 30 мин, после чего последовательно протирали участок контролируемой поверхности двумя марлевыми тампонами, смоченными хлористым метиленом, и одним сухим марлевым тампоном. Все три тампона помещали в виалу и дважды обрабатывали хлористым метиленом (2×4 мл) при ультразвуковом воздействии в течение 5 мин. Объединенный экстракт центрифугировали и концентрировали в токе азота до конечного объема 0,2 мл при комнатной температуре. Затем анализировали методом ГХ-МС/МС аликвоту экстракта объемом 2 мкл, табл. 2.

Пределы обнаружения (ПО) аналитов по методике определяли как минимальную концентрацию аналита в образцах смывов с поверхностей, при которой был зарегистрирован хроматографический пик с соотношением сигнал:шум не менее 3:1, которые составили: для бис(2-хлорэтил)сульфида – 0,2 нг/дм², 1,4-дифениламина – 0,05 нг/дм².

Таблица 2 – Доля извлекаемой формы бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана с различных поверхностей хлористым метиленом

Материал	Доля извлекаемой формы, % (\pm СКО; n=3)	
	Бис(2-хлорэтил)сульфид	1,4-дителиан
Плитка ПВХ	9,00 \pm 2,00	5,00 \pm 1,00
Ламинат	0,13 \pm 0,02	–*
Металл	0,10 \pm 0,03	–

Примечание: * – ниже предела обнаружения 1,4-дителиана

Данные таблицы 2 показывают, что оба analyта активно проникают вглубь материалов, либо удерживаются их поверхностным слоем. Низкая эффективность пробоотбора взятием смывов с поверхностей исследуемых объектов для определения analyтов свидетельствует о необходимости проведения анализа «глубинных» проб.

Определение бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в образцах фрагментов строительных конструкций и инженерной инфраструктуры

Для исследования возможности определения бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в образцах фрагментов строительных конструкций и инженерной инфраструктуры выбрали восемь типов материалов: керамическую плитку, бетон, огнеупорный, керамический и силикатный кирпичи, образцы кабель-канала из ПВХ (полимер №1), уплотняющей прокладки на основе резины (полимер №2), гофры для кабеля из ПВХ (полимер №3). Модельные образцы готовили путем внесения бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в каждую матрицу в концентрации 0,5-50 нг/г. Извлечение целевых соединений из образцов проводили методом жидкостной экстракции при обработке ультразвуком в течение 10 мин. Степени извлечения analyтов определяли при анализе экстрактов из исследуемых измельченных образцов строительных материалов, полученных через 15 ч после внесения в каждую матрицу бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в концентрации 50 нг/г. Данные по извлечению analyтов представлены в таблице 3.

Для оценки матричного влияния и расчета матричного фактора (МФ) в экстракты из бланковых образцов строительных материалов и полимеров вносили бис(2-хлорэтил)сульфид и 1,4-дителиан в концентрации 50 нг/мл и анализировали методом ГХ-МС/МС. Матричные факторы не оказывали существенного влияния на результаты определения бис(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в исследуемых образцах (МФ = 90-110 %). Для бис(2-хлорэтил)сульфида незначительное подавление сигнала наблюдалось при анализе экстракта из керамической плитки (МФ = 80 %) и увеличение сигнала при анализе экстракта из полимера №3 (МФ = 126 %). Для 1,4-дителиана наблюдалось подавление сигнала при анализе экстракта из образца бетона (МФ = 83 %) и увеличение – при анализе экстрактов из образцов кирпичей, а также полимера №3 (МФ = 120-130 %).

Для построения градуировочных характеристик проводили анализ серии стандартных растворов analyтов в 2-хлорпропане в диапазонах концентраций: 2,5-1500 нг/мл для бис(2-хлорэтил)сульфида; 0,5-2500 нг/мл для 1,4-дителиана.

Пределы детектирования *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в модельных растворах составили 2,5 нг/мл и 0,5 нг/мл соответственно.

Таблица 3 – Степени извлечения *бис*(2-хлорэтил)сульфида (1) и 1,4-дителиана (2) из модельных образцов различными растворителями

Объект анализа	Степень извлечения, % (коэффициент вариации, %; n=3)									
	Диэтиловый эфир		2-хлорпропан		Ацетонитрил		Гексан		Ацетон	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Керамическая плитка	н/о	н/о	63 (20)	62 (22)	50 (30)	47 (31)	37 (8)	80 (16)	68 (9)	77 (5)
Огнеупорный кирпич	н/о	37 (5)	66 (2)	74 (14)	59 (3)	72 (9)	37 (11)	70 (4)	33 (9)	49 (11)
Керамический кирпич	49 (6)	39 (1)	62 (10)	72 (8)	42 (20)	65 (17)	34 (8)	67 (8)	27 (14)	46 (20)
Силикатный кирпич	69 (5)	52 (2)	50 (13)	64 (18)	30 (30)	59 (15)	34 (18)	62 (12)	22 (17)	58 (27)
Бетон	86 (14)	60 (11)	56 (30)	76 (30)	43 (25)	70 (25)	52 (14)	80 (16)	52 (11)	н/о
Полимер №1	67 (7)	19 (28)	77 (19)	22 (14)	36 (27)	10 (24)	36 (10)	7 (22)	н/и	
Полимер №2	60 (30)	56 (5)	92 (11)	59 (12)	100 (8)	83 (10)	78 (13)	43 (17)		
Полимер №3	48 (27)	16 (11)	100 (4)	30 (15)	57 (16)	9 (16)	30 (6)	5 (31)		

Примечания: н/о – не обнаружено, концентрация аналита в экстракте ниже предела обнаружения; н/и – не исследовали ввиду частичного растворения матриц в ацетоне

Линейный диапазон методики устанавливали внесением *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в диапазоне 1-300 нг/г в образцы строительных материалов. Коэффициенты детерминации R² для всех матриц составили 0,9909-0,9998 (n=5).

Пределы обнаружения *бис*(2-хлорэтил)сульфида в разных матрицах составили 0,7-0,9 нг/г. ПО 1,4-дителиана в разных матрицах составили 0,2-1,0 нг/г. Пределом количественного определения (ПКО) считали минимальную концентрацию аналитов, при которой был зарегистрирован хроматографический пик с соотношением сигнал:шум более 10:1. ПКО *бис*(2-хлорэтил)сульфида в разных матрицах составили 2-3 нг/г. ПКО 1,4-дителиана в разных матрицах составили 1-2 нг/г. Для оценки прецизионности результатов анализа вычисляли коэффициенты вариации. Для этого анализировали по три параллельных образца каждой исследуемой матрицы с внесением *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в течение одного дня и ежедневно в течение трех дней. Относительные стандартные отклонения результатов анализа не превышали ±30 %.

Для оценки долгосрочной стабильности в образцы строительных материалов вносили *бис*(2-хлорэтил)сульфид и 1,4-дителиан в концентрации 50 нг/г и хранили в течение 5 месяцев при температуре 4 °С. В образцах бетона и кирпичей после 5 месяцев хранения *бис*(2-хлорэтил)сульфид не был обнаружен; только в одном

образце керамической плитки он был детектирован на уровне предела обнаружения. В образцах полимерных материалов содержание *бис*(2-хлорэтил)сульфида снизилось менее чем на 50 % и составило $26,3 \pm 3,1$ нг/г, $47,8 \pm 1,5$ нг/г и $38,5 \pm 0,7$ нг/г для образцов полимеров №1, №2 и №3 соответственно. 1,4-Дитиан идентифицировали после 5 месяцев хранения во всех образцах, кроме керамической плитки. Остаточное содержание 1,4-дитиана на уровне 30 нг/г установили в пробах силикатного кирпича и полимера №2. В остальных образцах содержание 1,4-дитиана оказалось ниже 10-15 нг/г. Полученные результаты показывают, что полимерные материалы, контактировавшие ранее с *бис*(2-хлорэтил)сульфидом, могут быть источником потенциальной опасности. С другой стороны, установленные содержания аналитов позволяют рекомендовать полимерные материалы как наиболее перспективные объекты для ретроспективной идентификации *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дитиана.

Разработанные методики определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дитиана в смывах с поверхностей и образцах строительных материалов апробировали при анализе отобранных на бывшем объекте по УХО проб. Проанализировали более 60 образцов строительных материалов, полимерных элементов инфраструктуры и смывов с поверхностей технологического оборудования, предположительно ранее находившегося в контакте с *бис*(2-хлорэтил)сульфидом или реакционными массами от его нейтрализации. *Бис*(2-хлорэтил)сульфид обнаружили в 5 из 15 проб смывов на уровне $0,2-2$ нг/дм² ($0,001-0,01$ ПДУ) и 7 из 50 проб строительных отходов (образцы полимерных материалов) на уровне 7-50 нг/г ($0,07-0,5$ ПДК). Концентрация 1,4-дитиана в 12 из 15 образцов смывов находилась на уровне 3-150 нг/дм², а в 17 из 50 образцов строительных отходов (в основном образцы полимерных материалов) – в диапазоне от 17 до 700 нг/г.

Разработка методики определения глобинового аддукта *бис*(2-хлорэтил)сульфида в эритроцитах крови

Для установления факта воздействия *бис*(2-хлорэтил)сульфида на организм проводили исследования с наиболее долгоживущими и характеристичными биомаркерами. Аддукты с биомолекулами крови (гемоглобином, альбумином, остатками аспарагиновой и глутаминовой кислот, ДНК и др.) являются ретроспективными маркерами экспозиции *бис*(2-хлорэтил)сульфидом. В большинстве случаев ретроспективность обнаружения определяется длительностью жизни клетки, несущей маркер. В качестве наиболее ретроспективного биомаркера поражения *бис*(2-хлорэтил)сульфидом выбрали глобиновый аддукт. Фрагмент глобинового аддукта N-[2-[(гидроксиэтил)тио]этил]-валин (**НЕТЕ-Val**) может быть определен методом газовой хроматографии только в виде летучего производного. Для отщепления N-концевого валина глобин, выделенный из эритроцитарной массы, обрабатывали пентафторфенилзотиоцианатом (**ПФИТЦ**) с получением производного №1 – 1-(2-(2-гидроксиэтилтио)этил)-5-изопропил-3-(перфторфенил)-2-тиооксоимидазолидин-4-она (**НЕТЕ-Val-P**). Затем для улучшения хроматографических характеристик **НЕТЕ-Val-P** дериватизировали по гидроксильной группе гептафтормасляным ангидридом (**ГФМА**) с получением

производного №2 – 2-(2-(5-изопропил-4-оксо-3-(перфторфенил)-2-тиооксоимидазолидин-1-ил)этилтио)этил перфторбутианоата (НЕТЕ-Val-P-P), рис. 4.

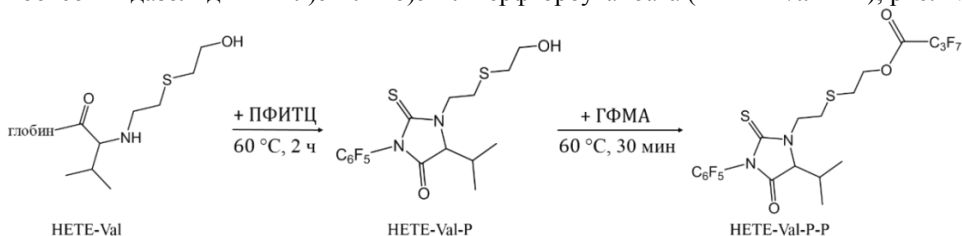


Рисунок 4 – Схема получения летучих производных НЕТЕ-Val из глобина, алкилированного бис(2-хлорэтил)сульфидом

Подбор условий хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования осуществляли с помощью синтезированного аналитического стандарта НЕТЕ-Val. На первом этапе исследования получили масс-спектры НЕТЕ-Val-P и НЕТЕ-Val-P-P при анализе растворов дериватов методами ГХ-МС-ОХИ и ГХ-МС-ИЭ в режиме сканирования по полному ионному току в диапазоне m/z 45-650, табл. 4.

Таблица 4 – Масс-спектры НЕТЕ-Val-P и НЕТЕ-Val-P-P в цифровом виде

Определяемое соединение	ЭИ [70 эВ, $m/z \geq 100$, $I_{отн} \geq 5\%$]	ОХИ [$m/z \geq 100$, $I_{отн} \geq 5\%$]
НЕТЕ-Val-P	351 (42 %), 383 (100 %), 410 (15 %), 428 (25 %)	323 (41 %), 364 (27 %), 383 (100 %)
НЕТЕ-Val-P-P	241 (22 %), 351 (23 %), 383 (100 %), 624 (9 %)	346 (13 %), 407 (40 %), 544 (11 %), 564 (100 %), 584 (15 %), 624 (5 %)

Наиболее интенсивный ион в полученных масс-спектрах ОХИ и ИЭ с m/z 383 [M–CH₂CH₂OH] был подвергнут дополнительной фрагментации варьированием энергии соударений от 3 до 30 эВ с шагом 3 эВ. В результате проведенных исследований установили характеристичные MRM-переходы: m/z 383 → 323 (9 эВ) и m/z 383 → 363 (9 эВ) для определения НЕТЕ-Val-P методом ГХ-МС/МС-ОХИ; MRM-переходы m/z 383 → 130 (18 эВ) и m/z 383 → 162 (18 эВ) для определения НЕТЕ-Val-P методом ГХ-МС/МС-ИЭ.

Масс-спектр производного НЕТЕ-Val-P-P, в отличие от большинства масс-спектров ОХИ, содержит большое число пиков: m/z 624 [M][–], m/z 564 [M–3HF][–], m/z 544 [M–4HF][–], m/z 407 [M–HF–COCF₂CF₂CF₃][–] и др. Для наиболее интенсивных характеристичных ионов с m/z 564 и m/z 407 получили масс-спектры диссоциации, индуцированной соударениями, варьированием энергии соударений от 3 до 24 эВ с шагом 3 эВ. Были подобраны следующие характеристичные MRM-переходы для определения НЕТЕ-Val-P-P методом ГХ-МС/МС-ОХИ: m/z 564 → 544 (9 эВ) и m/z 407 → 320 (15 эВ).

Масс-спектр производного НЕТЕ-Val-P-P, полученный в режиме ИЭ, существенно не отличается от масс-спектра производного НЕТЕ-Val-P: одним из наиболее интенсивных пиков является ион с m/z 383. Таким образом,

характеристичные MRM-переходы для определения НЕТЕ-Val-P-P методом ГХ-МС/МС-ИЭ аналогичны MRM-переходам для определения НЕТЕ-Val-P: m/z 383 \rightarrow 130 (18 эВ) и m/z 383 \rightarrow 162 (18 эВ). Рассчитанные величины RI на слабополярной фазе для НЕТЕ-Val-P и НЕТЕ-Val-P-P составили 2512 ± 2 и 2455 ± 2 ед. инд. соответственно.

Оптимизированные условия ГХ-МС/МС анализа апробировали на образцах цельной крови с внесением *бис*(2-хлорэтил)сульфида в концентрациях 1-100 нг/мл. Схема пробоподготовки образцов крови для определения глобинового аддукта *бис*(2-хлорэтил)сульфида представлена на рисунке 5.

Для построения градуировочной характеристики анализировали серию растворов НЕТЕ-Val-P-P с концентрациями от 0,1 до 10 нг/мл методами ГХ-МС/МС-ОХИ и ГХ-МС/МС-ИЭ. Все растворы готовили путем разбавления толуолом исходного раствора НЕТЕ-Val-P-P с концентрацией 10 мг/мл, приготовленного из синтезированного стандартного образца НЕТЕ-Val после двухстадийной дериватизации ПФИТЦ и ГФМА. Аликвоту раствора, соответствующую каждой градуировочной точке, объемом 1 мл упаривали досуха в токе азота при 60 °С, перерастворяли в 50 мкл толуола и анализировали методами ГХ-МС/МС-ОХИ и ГХ-МС/МС-ИЭ. Пределы детектирования НЕТЕ-Val-P-P в модельных растворах методами ГХ-МС/МС-ОХИ и ГХ-МС/МС-ИЭ составили 0,1 нг/мл и 1 нг/мл соответственно.

Линейный диапазон концентраций (ЛД), предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО) НЕТЕ-Val-P-P оценивали при анализе серии образцов цельной крови с внесением *бис*(2-хлорэтил)сульфида в диапазоне концентраций 5-100 нг/мл, табл. 5.

Таблица 5 – Линейный диапазон концентраций, предел обнаружения и предел количественного определения НЕТЕ-Val-P-P в цельной крови

Метод анализа	ЛД, нг/мл	R ² (n=5)	ПО, нг/мл	ПКО, нг/мл
ГХ-МС/МС-ОХИ	5-100	0,9956	5	10
ГХ-МС/МС-ИЭ	15-100	0,9895	15	20

Оценку прецизионности результатов осуществляли при анализе образцов цельной крови с внесением *бис*(2-хлорэтил)сульфида в концентрациях 40 нг/мл и 100 нг/мл. Анализировали четыре параллельных образца в течение одного дня и по четыре параллельных образца ежедневно в течение двух дней, после чего рассчитывали коэффициенты вариации (КВ), таблица 6.

Таблица 6 – Прецизионность результатов определения НЕТЕ-Val-P-P в крови

Внесено <i>бис</i> (2-хлорэтил)сульфида, нг/мл	Найдено НЕТЕ-Val-P-P, нг/мл	КВ (1 день), % n=4	КВ (2 дня), % n=8
40	1,6	4,6	10,5
100	3,1	9,4	16,2

Как следует из таблицы 6, с N-концевым валином в глобине взаимодействует ориентировочно 3-4 % внесенного в пробу цельной крови *бис*(2-хлорэтил)сульфида, что является вполне достаточным для оценки уровня экспозиции человека или жи-

вотных по содержанию НЕТЕ-Val в глобине при воздействии несмертельных доз бис(2-хлорэтил)сульфида.

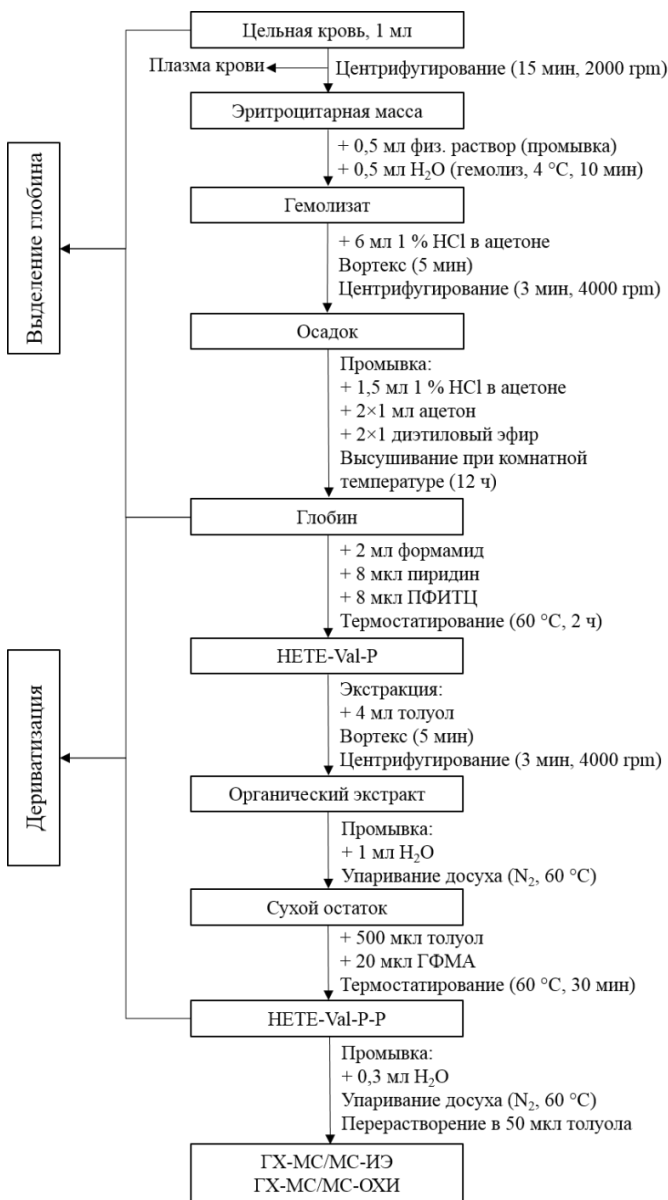


Рисунок 5 – Схема пробоподготовки образцов цельной крови для определения глобинового аддукта бис(2-хлорэтил)сульфида методом ГХ-МС/МС

Разработка методики определения бис(2-хлорэтил)сульфида, регенерированного из аддуктов с белками плазмы крови

Регенерирование бис(2-хлорэтил)сульфида проводили концентрированной соляной кислотой из состава аддуктов, образующихся при аликилировании свободных остатков аспарагиновой и глутаминовой кислот белков плазмы крови. Определение бис(2-хлорэтил)сульфида осуществляли по ранее оптимизированным параметрам ГХ-МС/МС анализа (табл.1). Идентификацию аналита проводили по MRM-переходам 109→63 (6 эВ) и 158→109 (3 эВ), а также по времени удерживания: 9,2 мин.

В качестве внутреннего стандарта при анализе плазмы крови использовали нафталин-d₈. Использование дейтерированного стандарта обусловлено его заведомым отсутствием в плазме, в то время как нафталин в крови может присутствовать. Время удерживания нафталина-d₈ при оптимизированных условиях анализа составило 9,4 мин. Идентификацию осуществляли по MRM-переходам 136 → 84 (27 эВ) и 136 → 108 (18 эВ).

При обработке выделенного из плазмы белка концентрированной соляной кислотой и диметоксипропаном (ДМП) аддукт одновременно отщепляется и превращается в свободный бис(2-хлорэтил)сульфид. Во время этой реакции ДМП реагирует с избытком воды с образованием ацетона и метанола (рис. 6), теоретически, увеличивая выход регенерированного бис(2-хлорэтил)сульфида.

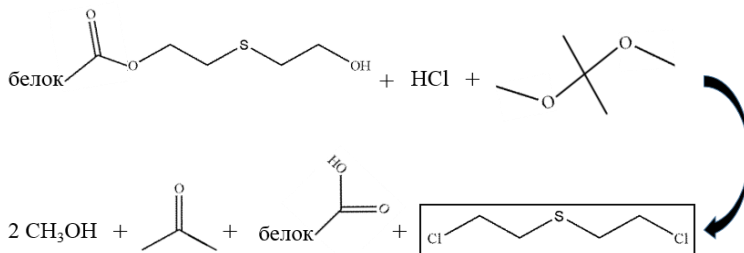


Рисунок 6 – Схема реакции регенерирования бис(2-хлорэтил)сульфида из состава белковых аддуктов

При оптимизации процедуры пробоподготовки оценивали такие параметры как влияние ДМП и времени проведения гидролиза на выход регенерированного бис(2-хлорэтил)сульфида. Применение ДМП для связывания воды в наших условиях не приводило к существенному увеличению выхода регенерированного бис(2-хлорэтил)сульфида, и мы отказались от его применения. На рисунке 7 представлена оптимизированная процедура пробоподготовки образцов плазмы крови для последующего определения бис(2-хлорэтил)сульфида, регенерированного из состава аддуктов с белками плазмы крови.

Установление линейного диапазона концентраций и построение градуировочной характеристики осуществляли при анализе образцов плазмы крови с внесением бис(2-хлорэтил)сульфида в диапазоне концентраций 0,5-100 нг/мл. Анализировали

по три параллельных образца каждой концентрации и устанавливали зависимость отношения площадей пиков регенерированного *бис*(2-хлорэтил)сульфида и внутреннего стандарта от количества внесенного в плазму *бис*(2-хлорэтил)сульфида. Уравнение линейной регрессии $S = 0,0203 \times C + 0,0051$; коэффициент детерминации $R^2=0,9998$ ($n=6$). ПО и ПКО по внесенному в плазму *бис*(2-хлорэтил)сульфиду составили 0,5 нг/мл и 1 нг/мл соответственно.

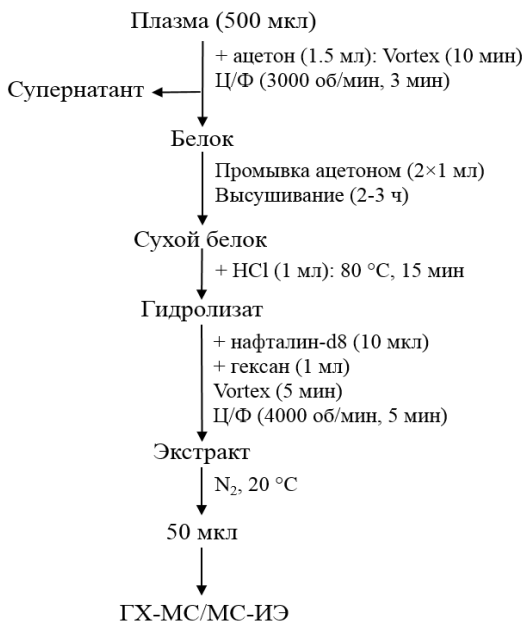


Рисунок 7 – Схема пробоподготовки для определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида, регенерированного из состава белковых аддуктов плазмы крови

В рамках отдельных экспериментов установлено, что после внесения в плазму крови *бис*(2-хлорэтил)сульфида в концентрации до 100 нг/мл он полностью связывается с белками, таким образом весь определяемый *бис*(2-хлорэтил)сульфид получается в результате регенерации соляной кислотой.

Оценку прецизионности методики осуществляли анализом образцов плазмы крови с внесением *бис*(2-хлорэтил)сульфида в концентрациях 1-100 нг/мл. Анализировали по пять параллельных образцов каждой концентрации в течение одного дня и по пять параллельных образцов каждой концентрации каждый день в течение трех дней, после чего рассчитывали коэффициенты вариации. Относительные стандартные отклонения результатов анализа за один день не превышали 8,5 %. Относительные стандартные отклонения результатов анализа за три дня были не выше 10,6 % (кроме результатов на уровне ПКО – 15,5 %).

Стабильность аддуктов и их способность к регенерированию исследовали на образцах плазмы крови с внесением *бис*(2-хлорэтил)сульфида при хранении в

течение 1, 3 и 5 недель при температурах 4 °С, 30 °С и –20 °С (три цикла заморозки/оттаивания). Также оценивали стабильность экстрактов при хранении в морозильной камере в течение месяца и автосамплере с проколотой септой в течение 24 ч. Для целей исследования готовили 4 серии образцов плазмы крови объемом 20 мл каждый с внесением *бис*(2-хлорэтил)сульфида в концентрациях 2, 5, 20 и 50 нг/мл. Из каждой серии отбирали по три аликвоты объемом 500 мкл, проводили пробоподготовку по схеме, представленной на рисунке 7, и анализировали методом ГХ-МС/МС. Полученные результаты представлены на рисунке 8.

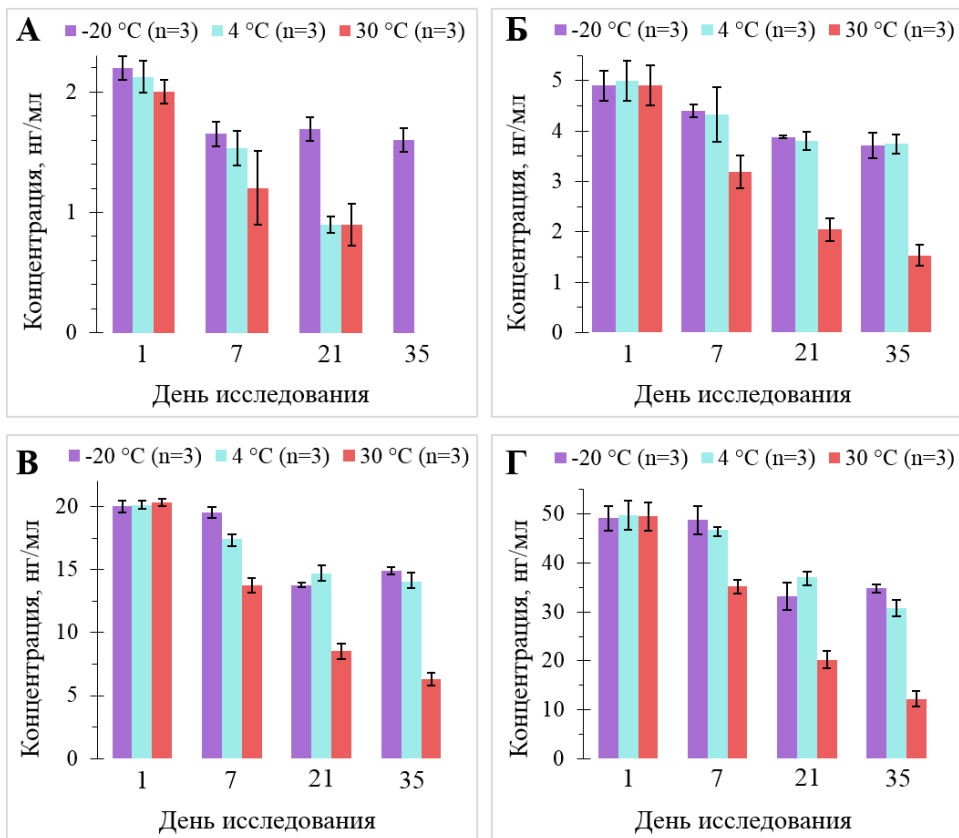


Рисунок 8 – Результаты исследования стабильности образцов плазмы с внесением *бис*(2-хлорэтил)сульфида при хранении в разных температурных условиях

В образцах плазмы крови с концентрацией 2 нг/мл по внесенному *бис*(2-хлорэтил)сульфиду, рисунок 10А, обнаружение аналита возможно до 3-х недель при хранении в условиях повышенной температуры и при 4 °С. Через 2 недели после

внесения содержание *бис*(2-хлорэтил)сульфида в образцах было на уровне 40 % от установленного в 1-й день.

Концентрация *бис*(2-хлорэтил)сульфида, регенерированного из состава белковых аддуктов, в образцах плазмы крови, *in vitro* экспонированной *бис*(2-хлорэтил)сульфидом в концентрациях 5, 20 и 50 нг/мл, рисунок 10 (Б, В, Г), после хранения в течение 35 дней при 4 °С в среднем составила 60-70 % от исходного содержания в образцах. Остаточное содержание *бис*(2-хлорэтил)сульфида в образцах, хранившихся при 30 °С, было на уровне 30 % от концентрации, установленной в 1-й день.

После трех циклов заморозки/оттаивания содержание аналита во всех образцах было в диапазоне 70-75 % от исходного. При хранении экстрактов в автосамплере в течение 24 ч и морозильной камере в течение месяца содержание *бис*(2-хлорэтил)сульфида изменилось менее чем на 5 %.

Градуировочная характеристика для исследования стабильности была построена с использованием образцов плазмы с внесением известного количества *бис*(2-хлорэтил)сульфида. В данном случае рассчитанные концентрации аналита в экстрактах из образцов плазмы крови не являются абсолютными, а даются в пересчете на количество *бис*(2-хлорэтил)сульфида, изначально внесенного в плазму. Для установления абсолютной концентрации *бис*(2-хлорэтил)сульфида, образующегося после обработки соляной кислотой выделенного из плазмы крови белка, градуировочная характеристика строилась следующим образом: выделяли белок из бланковых образцов плазмы крови, не содержащих *бис*(2-хлорэтил)сульфид, после чего проводили его гидролиз соляной кислотой, в гидролизат вносили 10 мкл раствора нафталина-d₈ с концентрацией 200 нг/мл и стандартные растворы *бис*(2-хлорэтил)сульфида в диапазоне концентраций 0,03-10 нг/мл. Проводили экстракцию гексаном и анализировали сконцентрированные до ±50 мкл экстракты методом ГХ-МС/МС. По полученным данным строили градуировочную зависимость площади пика *бис*(2-хлорэтил)сульфида, нормализованной на площадь пика внутреннего стандарта, от количества *бис*(2-хлорэтил)сульфида, внесенного в гидролизат. Уравнение линейной регрессии $S = 0,2437 \times C + 0,0201$; коэффициент детерминации $R^2 = 0,9997$ (n=9).

Абсолютную концентрацию *бис*(2-хлорэтил)сульфида, регенерированного из состава белковых аддуктов, рассчитывали по полученному уравнению линейной регрессии после анализа образцов плазмы крови с внесением аналита в диапазоне концентраций от 1 до 100 нг/мл. На рисунке 9 представлена зависимость концентрации регенерированного из состава белковых аддуктов *бис*(2-хлорэтил)сульфида от его количества, внесенного в плазму крови.

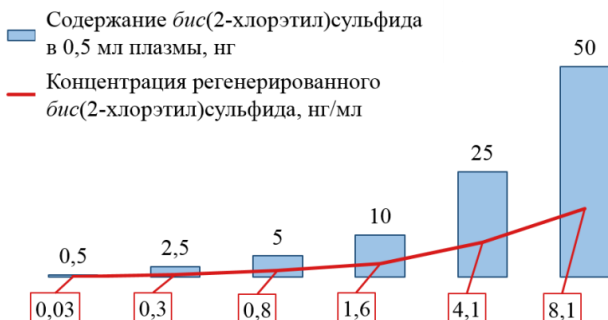


Рисунок 9 – Зависимость концентрации регенерированного из состава белковых аддуктов бис(2-хлорэтил)сульфида от его количества, внесенного в плазму крови

Как видно из рисунка 9, с остатками глутаминовой и аспарагиновой кислот связывается около 16 % от изначально внесенного в плазму бис(2-хлорэтил)сульфида. При повышении концентрации бис(2-хлорэтил)сульфида, попавшего в плазму крови, от 1 до 100 нг/мл его количество, связанное с белками плазмы, пропорционально повышается, т.е. насыщения активных центров не происходит. Определение абсолютной концентрации связанного бис(2-хлорэтил)сульфида, который регенерируется из белковых аддуктов плазмы крови, важно для реконструкции полученной дозы в случае экспозиции бис(2-хлорэтил)сульфидом.

Апробацию разработанной методики определения бис(2-хлорэтил)сульфида, регенерированного из состава аддуктов с белками плазмы крови, осуществляли в рамках участия лаборатории аналитической токсикологии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» в 6-м международном квалификационном тесте ОЗХО по анализу биомедицинский проб в качестве лаборатории, ответственной за разработку сценария теста и оценку стабильности разосланных участникам теста проб. Исследовали 4 случайно выбранных лабораторией ОЗХО набора по три образца плазмы: один бланковый образец и два образца с внесением бис(2-хлорэтил)сульфида в концентрациях 20 и 50 нг/мл. Необходимо было подтвердить, что образцы, полученные участниками, стабильны в течение срока проведения испытаний (41 день). По правилам квалификационных тестов ОЗХО образцы хранились при 4 °С (три набора) и при 30 °С (один набор).

Определение аналита было возможно вплоть до 41 дня после приготовления образцов независимо от условий хранения. В образцах плазмы крови с концентрацией по внесенному бис(2-хлорэтил)сульфиду 20 нг/мл содержание регенерированного из состава белковых аддуктов бис(2-хлорэтил)сульфида при температурах хранения образцов 4 °С и 30 °С составило 13,3 нг/мл и 6,6 нг/мл соответственно. Остаточное содержание аналита в образцах плазмы крови с изначальной концентрацией по внесенному бис(2-хлорэтил)сульфиду 50 нг/мл после 41 дня хранения при 4 °С и 30 °С было на уровне 30,4 и 17,9 нг/мл соответственно.

ВЫВОДЫ

1. Предложена схема аналитического контроля строительных материалов и объектов инженерной инфраструктуры бывших предприятий по уничтожению *бис*(2-хлорэтил)сульфида на этапе конверсии, основанная на определении *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в смывах с поверхностей и измельченных образцах строительных материалов. Показано, что после их нанесения на плитку ПВХ в количестве 100 нг/дм^2 и взятии смывов через 30 мин извлекается лишь 9 % *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 5 % 1,4-дителиана. С металлических поверхностей и ламината аналиты практически не извлекались, в ретроспективном режиме информативен анализ «глубинных» проб.

2. Установлено, что матричные факторы практически не влияют на ГХ-МС/МС определение *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в строительных материалах различной природы, что обеспечивает возможность унифицированного подхода к их анализу.

3. При проведении исследования стабильности *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана в образцах строительных материалов во времени установили, что более 50 % исходной концентрации *бис*(2-хлорэтил)сульфида сохраняется в полимерных материалах как минимум в течение 5 месяцев. 1,4-дителиан идентифицировали во всех образцах, кроме керамической плитки. Можно предположить, что полимерные материалы являются наиболее перспективными объектами для ретроспективной идентификации *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дителиана.

4. Проведена апробация разработанных методик при анализе проб, отобранных на бывшем предприятии по уничтожению химического оружия. *Бис*(2-хлорэтил)сульфид обнаружили в 15 % глубинных проб в концентрациях, не превышавших $5 \times 10^{-2} \text{ мг/кг}$, что значительно ниже ПДК, и в 30 % смывах в количествах, не превышавших $2 \times 10^{-6} \text{ мг/дм}^2$, что также существенно ниже ПДУ.

5. Разработана методика определения аддукта *бис*(2-хлорэтил)сульфида с глобином (НЕТЕ-Val). Для производных НЕТЕ-Val, полученных после дериватизации ПФИТЦ (НЕТЕ-Val-P) и двухстадийной дериватизации ПФИТЦ и ГФМА (НЕТЕ-Val-P-P) получены масс-спектрометрические и хроматографические характеристики. При апробации методики в условиях оптимизированной пробоподготовки пределы обнаружения НЕТЕ-Val-P-P методами ГХ-МС/МС-ОХИ и ГХ-МС/МС-ИЭ составили 5 и 15 нг/мл по внесенному в кровь *бис*(2-хлорэтил)сульфиду.

6. Разработана и валидирована методика определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида, регенерированного из состава аддуктов с белками плазмы крови. Предел обнаружения по внесенному в плазму *бис*(2-хлорэтил)сульфиду составил 0,5 нг/мл. Экспериментально установлено, что обнаружение аналита возможно, по крайней мере, в течение 35 суток при хранении плазмы в разных температурных условиях. Методика и сведения о стабильности аддуктов *бис*(2-хлорэтил)сульфида с белками плазмы и их способности к регенерации в зависимости от длительности и температурных условий хранения образцов применили при разработке сценария и подготовке проб для 6-го международного профессионального теста ОЗХО по анализу биопроб.

Основное содержание диссертационной работы изложено в публикациях:

1. **Шачнева М.Д.**, Корягина Н.Л., Савельева Е.И. Совершенствование процедуры определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида в материалах с высокой сорбционной активностью // Аналитика и контроль. 2021. Т. 25, № 2. С. 110-116.

2. Корягина Н.Л., **Шачнева М.Д.**, Уколов А.И., Савельева Е.И., Хлебникова Н.С., Радилов А.С. Усовершенствованный способ обнаружения глобинового аддукта сернистого иприта методом тандемной газовой хроматомасс-спектрометрии // Масс-спектрометрия, 2017, Т. 14. № 4, С. 266-272. Koryagina N.L, **Shachneva M.D.**, Ukolov A.I., Savel'eva E.I., Khlebnikova N.S., Radilov A.S. An Improved Procedure for the Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Detection of the Globin Adduct of Sulfur Mustard // Journal of Analytical Chemistry, 2018, Vol. 73, No. 13, pp. 1269–1274.

3. **Шачнева М.Д.**, Корягина Н.Л., Савельева Е.И. Исследование стабильности аддуктов сернистого иприта с белками плазмы крови методом тандемной газовой хроматомасс-спектрометрии // Масс-спектрометрия, 2021. Т. 18, № 2, С. 115-120.

4. Ленинский М.А., **Шачнева М.Д.**, Савельева Е.И., Корягина Н.Л. Методы разделения и концентрирования при определении высокотоксичных органических соединений (отравляющих веществ) // Журнал аналитической химии, 2021, Т. 76, № 9, стр. 771-787. Leninskii M.A., **Shachneva M.D.**, Savel'eva E.I., Koryagina N.L. Separation and preconcentration methods for the determination of highly toxic organic compounds (poisons). // Journal of Analytical Chemistry. 2021. Т. 76. № 9. с. 1029-1042.

5. **Шачнева М.Д.**, Ленинский М.А., Савельева Е.И. Возможности и ограничения анализа смывов с поверхностей для контроля контаминации объектов высокотоксичными органическими соединениями // Медицина экстремальных ситуаций, 2021, № 2, с. 41-47.

6. Корягина Н.Л., **Шачнева М.Д.**, Уколов А.И., Савельева Е.И., Хлебникова Н.С., Радилов А.С. Определение аддуктов глобина с сернистым ипритом методом газовой хроматографии тандемной масс-спектрометрии. Сборник материалов Всероссийской научной конференции «Медико-биологические проблемы обеспечения химической безопасности Российской Федерации». 17 февраля 2017 г., Санкт-Петербург, с. 166-169.

7. **Шачнева М.Д.**, Савельева Е.И. Определения *бис*(2-хлорэтил)сульфида и 1,4-дитиана в объектах техногенного происхождения методом ГХ-МС/МС-ИЭ. Сборник материалов IV Всероссийской конференции с международным участием «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез». 27 сентября – 3 октября 2020 г., Краснодар, с. 64.

8. **Shachneva M.D.**, Savelieva E.I. Development of a unified method for determining sulfur mustard in objects of various matrix composition by gas chromatography-tandem

mass spectrometry. Book of abstracts Vth international conference «Actual scientific & technical issues of chemical safety». October 6-8, 2020 Kazan, Russia, P. 200-201.

9. **Шачнева М.Д.**, Корягина Н.Л., Савельева Е.И. Определение сернистого иприта, регенерированного из состава аддуктов с белками плазмы крови, методом ГХ-МС/МС. Сборник материалов XI Всероссийской Научной конференции и школы «Аналитика Сибири и Дальнего Востока», посвященной 100-летию со дня рождения И.Г. Юделевича. 16-20 августа 2021 г., Новосибирск. С. 157.

10. **Шачнева М.Д.**, Савельева Е.И. Определение *бис*(2-хлорэтил)сульфида и продуктов его трансформации в строительных материалах и биологических образцах методом tandemной газовой хроматомасс-спектрометрии. Сборник материалов VI Всероссийского симпозиума «Разделение и концентрирование в аналитической химии и радиохимии». 26 сентября-2 октября 2021 г. С. 226.

11. Корягина Н.Л., Савельева Е.И., **Шачнева М.Д.** Эколого-токсикологический мониторинг 2,2'-дихлордиэтилсульфида. Сборник материалов Всероссийского симпозиума и школы-конференции молодых ученых «Физико-химические методы в междисциплинарных экологических исследованиях». 27 октября-3 ноября 2021 г. Севастополь. С. 41-42.

Автор выражает глубокую благодарность и.о. директора Радилову Андрею Станиславовичу и ведущему научному сотруднику лаборатории аналитической токсикологии Корягиной Надежде Леонидовне за ценные рекомендации, а также коллективу лаборатории аналитической токсикологии ФГУП «НИИ ГПЭЧ» ФМБА России за сотрудничество, помощь и поддержку.

ООО «Заневская площадь»
195112 г. СПб, Новочеркасский пр. 39 корп.1, пом.4Н, лит. А
заказ № 4711 от 08.07.2022 г.
тираж 100 шт.