

А. И. Уколов, А. С. Радиков

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРОКСИЛАМИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ И МОЧЕ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России, Российская Федерация, 188663, Ленинградская область, Всеволожский район, г. п. Кузьмоловский, корп. № 93

Предложена новая методика количественного определения гидроксиламина (ГА) в плазме крови и моче с использованием двойной дериватизации бензальдегидом и *бис*-триметилсилилтрифторацетамидом. Извлечение высокополярного гидрофильного ГА из биоматриц является сложной задачей. В ходе разработки методики были опробованы следующие способы: экстракционная дериватизация ГА ацетоном в режиме высаливания, извлечение оксима ацетона методом твердофазной микроэкстракции из паровой фазы, дериватизация бензальдегидом и извлечение в органическую фазу получившегося оксима и, наконец, двойная дериватизация бензальдегидом и *бис*-триметилсилилтрифторацетамидом. Последний вариант был положен в основу методики количественного анализа, поскольку обеспечивал максимальный выход при извлечении/дериватизации ГА. С использованием метода ГХ-МС предел обнаружения ГА в моче и плазме крови составил 30 нг/мл, с использованием ГХ-МС/МС удалось достигнуть предела количественного определения до 0,1 нг/мл. Количественное определение ГА в биожидкостях выполняли методом относительной градуировки с использованием метоксиамина в качестве внутреннего стандарта. Методика была апробирована при анализе биопроб лабораторных животных, экспонированных различными дозами ГА. Показано, что при использовании ГХ-МС возможно проводить диагностику острых отравлений гидроксиламином (SLD50), но для диагностики хронического воздействия ГА на организм (до 2 мг/л в питьевой воде) необходимо использовать более чувствительное tandemное масс-селективное детектирование. Библиогр. 16 назв. Ил. 4. Табл. 2.

Ключевые слова: кровь, моча, гидроксиламин, ракетное топливо, хроматомасс-спектрометрия.

Для цитирования: Уколов А. И., Радиков А. С. Определение гидроксиламина в плазме крови и моче методом газовой хроматомасс-спектрометрии // Вестник СПбГУ. Физика и химия. 2017. Т. 4 (62). Вып. 3. С. 337–345. <https://doi.org/10.21638/11701/spbu04.2017.308>

А. И. Ukolov, A. S. Radilov

GC-MS DETERMINATION OF HYDROXYLAMINE IN BLOOD AND URINE

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medical Biological Agency, 93, Kuzmolovsky, Vsevolozhsky District, Leningrad Region, 188663, Russian Federation

A GC-MS method was developed for hydroxylamine (HA) quantitation in blood plasma and urine. Feature of this method is two stages of derivatization: benzaldehyde and bis-trimethylsilyltrifluoroacetamide. HA is a highly polar, hydrophilic, low-weight basic compound. We tried a variety of approaches to derivatization and isolation of HA from water phase: simultaneous extraction and derivatization HA with acetone, extraction of acetone oxime using head-space solid phase microextraction, benzaldehyde derivatization and extraction into an organic phase of the resulting oxime and finally, a twin stage derivatization with benzaldehyde and bis-trimethylsilyltrifluoroacetamide, which has been recognized by us the best option. LOD of GC-MS method is 30 ng/mL, but using GC-MS/MS allow us to reduce LOD to 0.1 ng/mL. Quantification was performed by using relative calibration with methoxyamine as internal standard. Toxicological experiments with experimental animals were carried out in order to establishing possibilities of our method for diagnostics of acute and chronic intoxication of hydroxylamine.

It was shown that GC-MS are possible to diagnose just acute poisoning hydroxylamine (SLD50), but GC-MS/MS are possible to diagnose chronic intoxication by HA (2 mg/L in drinking water). Refs 16. Figs 4. Tables 2.

Keywords: hydroxylamine, blood, urine, jet fuel, GC-MS.

For citation: Ukolov A. I., Radilov A. S. GC-MS determination of hydroxylamine in blood and urine. *Vestnik SPbSU. Physics and Chemistry*. 2017. Vol. 4 (62), iss. 3. P. 337–345. <https://doi.org/10.21638/11701/spbu04.2017.308>

Введение. Основной сферой применения гидроксилamina (ГА) является производство ракетного топлива [1], капролактама, а также различных фармацевтических препаратов. До сих пор не решены вопросы воздействия ГА на рабочих химических производств и население регионов расположения объектов химической промышленности. При этом известно, что ГА может вызывать различные токсические эффекты, поступая в организм через кожу или респираторный тракт [2], в частности нарушение дыхания, анемию, метгемоглобинемию и спленомегалию [3]. Использование ГА в промышленности требует углублённых токсикологических исследований, неотъемлемой частью которых является изучение токсикокинетики. Для последующего обоснования гигиенических нормативов, расследования случаев острого воздействия ГА на человека, мониторинга его профессионально обусловленного хронического воздействия, необходимо разработать чувствительную методику количественного определения ГА в крови и моче.

Известные процедуры определения ГА относятся либо к фармацевтическому анализу, либо к контролю объектов окружающей среды. Так, авторы [4] предложили определять ГА в фармацевтической композиции методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС) с предшествующей дериватизацией циклогексаном. Известны примеры определения ГА в фармацевтических средах методом газовой хроматографии путём отбора оксида азота(I) из равновесного пара после окисления ГА непосредственно в газоплотной вialsе хлоридом железа [5] или гипохлоритом [6]. В работах [7, 8] рекомендовано использовать ионную хроматографию для определения ГА в полимерах и в отходах фармацевтической промышленности соответственно. Спектрофотометрический метод определения ГА в фармацевтических препаратах предложен в работе [9]. Вольтамперометрические сенсоры были использованы для определения ГА в сточных водах [10].

Несмотря на обилие известных способов определения ГА в лекарственных препаратах и объектах окружающей среды, работ, описывающих определение ГА в биологических объектах, известно гораздо меньше: в работе [11] предложено использовать реакцию окисления ГА иодат-анионом с последующим детектированием продуктов реакции диазотирования методом спектрофотометрии для определения ГА в воде и моче. Предел обнаружения (1,5 нг/мл) указан только для чистой воды. В работе [12] ГА определяли в микросомах печени с использованием ацетона в качестве дериватирующего агента. Извлечение оксима ацетона из биопробы при этом не проводилось, белковую часть отделяли путём центрифугирования, а супернатант вводили напрямую в инжектор газового хроматографа. Эта работа основывается на более раннем исследовании [13], в котором дериватизация ГА ацетоном использовалась для его определения в содержимом кишечника человека методом ГХ-МС или газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием (ГХ-ПИД). В кишечнике ГА может образовываться при восстановлении нитратов бактериальной флорой. Предел его обнаружения в исследуемой биожидкости составил 100 нг/мл. Методик, соответствующих задачам оценки последствий низкоуровневого воздействия ГА на лабораторных животных и человека, до настоящего времени не разработано.

Целью настоящей работы являлись разработка хроматомасс-спектрометрической методики определения ГА в моче и крови и её апробация при экспериментальном моделировании интоксикаций различными концентрациями водно-метанольного раствора ГА.

Результатом работы стала методика измерений массовых концентраций гидроксил-амина в плазме крови и моче. С использованием метода ГХ-МС предел обнаружения составил 30 нг/мл, с использованием газовой хроматографии с tandemным масс-селективным детектированием (ГХ-МС/МС) удалось понизить предел количественного определения до 0,1 нг/мл.

Экспериментальная часть. Оборудование: газовый хроматограф Agilent 7890А с масс-селективным детектором Agilent 5975С или tandemным масс-спектрометром с системой трёх квадруполей Agilent 7000. Газовый хроматограф оборудован капиллярной колонкой HP-5MS размерами 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм. Условия газохроматографического разделения и масс-селективного детектирования приведены в табл. 1.

Реактивы и стандарты: гидрохлорид гидроксил-амина (98%, ACS reagent, кат. № 255580), гидрохлорид метокси-амина (98%, Aldrich, кат. № 226904), бис-(триметилсилил)трифторацетамид (далее — БСТФА, для ГХ, Supelco, кат. № 33024), бис-*N*-третбутилдиметилсилил-*N*-метилтрифторацетамид (далее — МТБСТФА, не менее 97% для ГХ, Sigma-Aldrich, кат. № 19915), бензальдегид (не менее 99,5% Sigma-

Таблица 1

**Условия газохроматографического разделения
и масс-селективного детектирования
триметилсилильного эфира оксима бензальдегида**

Условия анализа	Характеристики
Газ-носитель	Гелий газообразный высокой чистоты марки 6,0, объёмная доля гелия не менее об. 99,9999%
Режим ввода пробы	Объём пробы 1 мкл, без деления потока (1 мин), под давлением 69 кПа
Температурный режим термостата колонки	3 мин при температуре 50°C, затем подъём до 140°C со скоростью 20°C/мин, затем подъём до 280°C со скоростью 5°C/мин, затем 8 мин при конечной температуре
Температура инжектора	250°C
Объёмная скорость газа-носителя через колонку	1 мл/мин
Режим работы масс-спектрометра с одним квадруполем, Agilent 5975С	Ионизация электронами с энергией 70 эВ. Температура источника ионов: 280°C. Температура квадруполя: 150°C. Температура интерфейса: 280°C. Масс-селективное детектирование в режиме мониторинга избранных ионов (SIM): $m/z = 193, 178, 135$ (внутренний стандарт)
Режим работы масс-спектрометра с системой трёх квадруполей, Agilent 7000	Ионизация электронами с энергией 70 эВ. Температура источника ионов: 280°C. Температура квадруполя: 150°C. Температура интерфейса: 280°C. Поток азота в ячейке соударений 1,5 мл/мин, поток гелия — 2,25 мл/мин. Масс-селективное детектирование в режиме мониторинга множественных реакций (ММР): 193 → 89 (10 В), 178 → 75, (10 В), 135 → 77 (20 В) — внутренний стандарт

Aldrich, кат. № 09143), ацетон (для ВЭЖХ, не менее 99,9% Supelco, кат. № 270725) уксусная кислота (х. ч. ледяная), CH_2Cl_2 (99,9%, JT Baker).

Подготовка образцов к анализу: к 400 мкл плазмы крови добавляли 10 мкл метанольного раствора внутреннего стандарта (метоксиамина) с концентрацией 20 нг/мкл, 10 мкл ледяной уксусной кислоты и 10 мкл бензальдегида. Смесь перемешивали в аппарате Vortex в течение 5 мин, после чего прибавляли 2 мл хлористого метилена и ещё раз перемешивали в Vortex в течение 5 мин, органический слой отделяли и процедуру экстракции водного остатка повторяли ещё дважды. Органический экстракт объединяли и упаривали досуха под током азота при комнатной температуре. К сухому остатку прибавляли 50 мкл БСТФА и выдерживали при 70°C в течение 30 мин, аликвотную часть объёмом 1 мкл вводили в инжектор хроматографа.

Экспериментальное моделирование интоксикации гидроксиламином выполнено с использованием белых беспородных крыс-самцов. Лабораторные животные (крысы) получали ГА внутрижелудочно или с питьевой водой (дозы см. в табл. 2), в каждой группе было по шесть животных. Условия содержания экспериментальных животных и процедуры отбора образцов мочи и стабилизированной этилендиаминтетраацетатом калия (ЭДТА) крови соответствовали «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (GLP)» (утверждённым приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.06.2003 № 267).

Обсуждение результатов. Гидроксилламин представляет собой высокополярное гидрофильное соединение. Температура кипения — 58°C с разложением. ГА проявляет основные свойства: $pK_a = 5,95$. Низкая молекулярная масса (33 а. е. м.) препятствует прямому определению ГА методом высокоэффективной жидкостной хроматографии — масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС). Для определения методом ГХ-МС необходимо предварительно извлечь ГА из водной среды, что также весьма затруднительно ввиду низкой липофильности ($\log P$ октанол/вода составляет 0,76). Для извлечения высокополярных соединений из водных сред путём жидко-жидкостной экстракции наиболее эффективно их высаливание или вымораживание в ацетонитрил [14, 15]. В наших экспериментах установлено, что высаливание ГА в ацетонитрил из водной среды происходит с крайне низкими степенями извлечения $\ll 1\%$. Липофильность ГА можно повысить путём дериватизации. Описан метод использования ацетона в качестве дериватирующего агента [12], однако стадия экстракции при этом отсутствовала, а в инжектор хроматографа вводили напрямую аликвоту водной пробы. К анализу мочи и плазмы крови такой подход неприменим.

В ходе разработки методики были опробованы следующие процедуры: одновременное извлечение и дериватизация ГА ацетоном в режиме высаливания, извлечение оксима ацетона методом твердофазной микроэкстракции из паровой фазы, дериватизация бензальдегидом и извлечение в органическую фазу получившегося оксима, и, наконец, двойная дериватизация бензальдегидом и *бис*-триметилсилилтрифторацетамидом. Далее более подробно рассмотрены все опробованные способы извлечения и дериватизации ГА для анализа методом ГХ-МС.

В первую очередь было опробовано предположение о возможности одновременной дериватизации и извлечения ГА из водной среды путём обработки ацетоном с последующим отделением органической фазы путём высаливания или вымораживания. Стандарт оксима ацетона готовили путём внесения ГА в ацетон с последующим выдерживанием при 40°C в течение 1 ч.

Для оптимизации хроматографического определения оксима ацетона было проведено сравнение хроматографических колонок: при использовании капиллярной газо-

хроматографической колонки с неподвижной фазой HP-5MS (5% фенильных групп на полидиметилсилоксане) длиной 30 м ГА элюировался в виде пика неправильной формы с явными признаками сорбционных эффектов и отсутствия инертности газохроматографической системы. Время удерживания составило 2 мин при 40°C.

Высокополярная и длинная (75 м) колонка с неподвижной фазой SP2560 (*бис*-дианопротилсилоксан) позволила повысить время удерживания оксима ацетона до 19 мин в режиме программирования температуры от 40 (2 мин) до 200°C (5°C/мин). Оптимальной колонкой для определения оксима ацетона оказалась Supelco Nukol (полиэтиленгликоль, модифицированный кислотами). Время удерживания оксима ацетона на ней составляло 6,9 мин.

Экстракционное оксимирование ГА ацетоном проводили следующим образом: в 1 мл воды вносили 25 мкг ГА в виде гидрохлорида, а также карбонат натрия и пробовали различные объёмные соотношения воды и ацетона: 1 : 4, 1 : 3, 1 : 2 и 1 : 1, т. е. к 1 мл воды прибавляли 4, 3, 2 и 1 мл ацетона соответственно. Затем пробу выдерживали в течение 30 мин при 40°C. Увеличение температуры или продолжительности реакции не влияло на степень извлечения/превращения.

Максимальная степень извлечения (60%) достигалась при самом высоком (80%) содержании ацетона в смеси, однако и в этом случае полученный экстракт содержал значительное количество воды, что затрудняло его концентрирование. Использование осушителей, в частности безводного сульфата натрия, значительно снижало степень извлечения оксима ацетона: с 60 до 2–4%.

Упаривание водно-ацетоновой смеси пробовали заменить концентрированием оксима ацетона из паровой фазы на микроволокне. Оптимальным условиям для твердофазной экстракции оксима ацетона из равновесного пара отвечали микроволокно типа Carboxene/PDMS и температура 40°C, однако и в этих условиях степени извлечения были недостаточными для целей количественного анализа.

Таким образом, несмотря на то что оксимирование ГА ацетоном легко осуществляется в водной среде, полученное производное не удаётся эффективно извлечь из неё.

Следующим шагом было получение менее гидрофильного по сравнению с оксимом ацетона производного ГА с целью использовать менее полярный экстрагент. Известно применение бензальдегида для получения гидразонов при дериватизации несимметричного диметилгидразина для его определения в почве и воде [16].

При использовании бензальдегида в качестве дериватирующего агента степень конверсии оксима достаточно высока ($\approx 90\%$), но его пик не удаётся отделить от пика бензойной кислоты, что препятствует определению низких концентраций ГА: пределы его обнаружения методом ГХ-МС в моче и плазме достаточно высоки и составляют порядка 300 нг/мл. На рис. 1 приведена масс-хроматограмма экстракта из мочи с внесением 1 мкг/мл ГА. Пик с временем удерживания 8,178 мин — оксим бензальдегида, значительно уширенный пик — бензойная кислота.

В целях оптимизации ГХ-МС-анализа было принято решение о введении второй стадии дериватизации — силилирования. В качестве силилирующих агентов были опробованы БСТФА и МТБСТФА. На рис. 2 приведена масс-хроматограмма экстракта из мочи с внесением 1 мкг/мл ГА. Пики с временем удерживания 11,560 и 11,734 мин — триметилсилильные эфиры оксима бензальдегида, значительно уширенный пик — эфир бензойной кислоты.

Время удерживания Z-изомера силилированного оксима бензальдегида относительно триметилсилильного эфира бензойной кислоты составило 1,045, замена триметилсилильной группы на *трет*-бутилдиметилсилильную не изменила относительное время

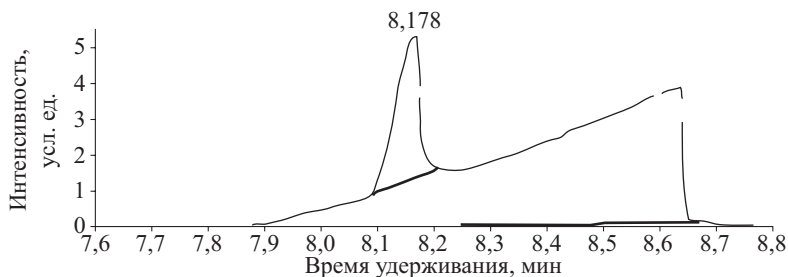


Рис. 1. Фрагмент масс-хроматограммы экстракта из мочи с внесением 1 мкг/мл ГА и бензальдегида

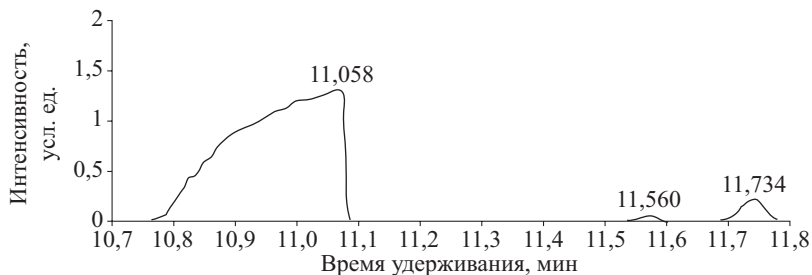


Рис. 2. Фрагмент масс-хроматограммы экстракта из мочи, обработанного БСТФА, с внесением 1 мкг/мл ГА и бензальдегида

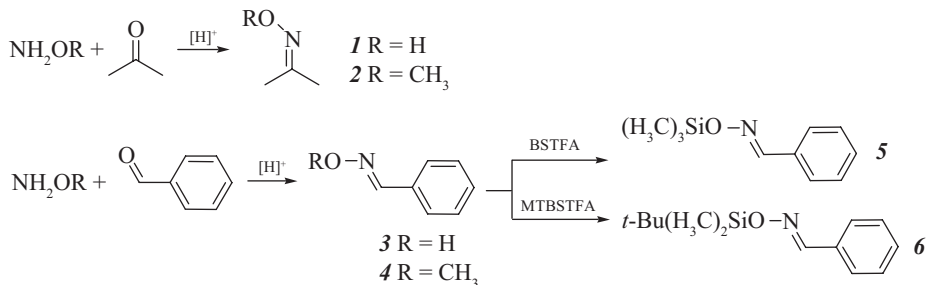


Рис. 3. Образование различных производных ГА и метоксиамина: с ацетоном, бензальдегидом, а также при силилировании

удерживания, которое составило в этом случае 1,041. Схема образования различных производных ГА приведена на рис. 3.

Таким образом, ТМС-производные предпочтительнее за счёт их меньших времён удерживания. Стоит отметить, что силильные производные оксима бензальдегида элюируются в виде двух пиков *E*- и *Z*-изомеров. Тем не менее проигрыш в чувствительности компенсируется тем, что проведение дериватизации повышает молекулярную массу аналита почти в 6 раз.

Предел обнаружения при использовании метода ГХ-МС составил 30 нг/мл плазмы крови или мочи. Для повышения чувствительности было опробовано использование тандемного масс-селективного детектирования. Были выбраны два ММР-перехода: 193 → 89 для количественного анализа и 178 → 75 в качестве подтверждающего. Напряжение в ячейке соударений для двух переходов составило 10 В. Внутренний стан-

дарт детектировали по переходу 135 → 77 (20 В). Оптимальное напряжение в ячейке соударений было определено на диапазоне 1–30 В с шагом в 5 В. Использование метода ГХ-МС/МС позволило снизить предел обнаружения до 0,1 нг/мл.

Экспериментальное моделирование интоксикации ГА было проведено с целью выявить возможности методики для установления причин отравлений и мониторинга хронического воздействия ГА, а также установления зависимости между полученными дозами токсиканта и его концентрациями в биологических образцах.

На рис. 4 приведена масс-хроматограмма подготовленного экстракта из мочи крыс, получавших 565 мкг/кг ГА с питьевой водой. В табл. 2 приведены результаты определения концентраций ГА в различных биологических образцах.

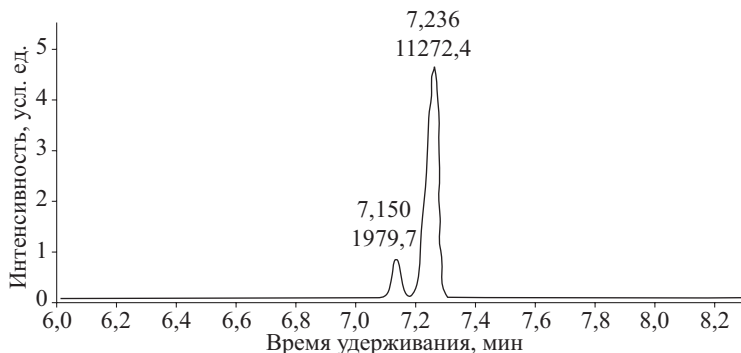


Рис. 4. Фрагмент масс-хроматограммы экстракта из мочи крыс, получавших 565 мкг/кг ГА с питьевой водой:

масс-хроматограмма зарегистрирована по ММР-переходу 193 → 89

Таблица 2

Результаты определения ГА в плазме крови и моче крыс после острой и хронической интоксикации ГА (в каждой группе по шесть животных)

Серия	Проба (время отбора проб)	Доза метанольного раствора нитрата ГА	Результат определения ГА, нг/мл
Острый эксперимент	Плазма (2 ч)	101,6 мг/кг, SLD ₅₀ внутрижелудочно, однократно	4321 ± 1080
	Плазма (4 ч)		421 ± 131
	Моча (24 ч)		29400 ± 7056
Хронический эксперимент	Плазма, 1-я группа	565 мкг/кг с питьевой водой, 30 дней	304 ± 155
	Моча, 1-я группа		3555 ± 640
	Плазма, 2-я группа	113,1 мкг/кг с питьевой водой, 30 дней	12 ± 8
	Моча, 2-я группа		106 ± 30
	Плазма, 3-я группа	22,6 мкг/кг с питьевой водой, 30 дней	8 ± 4
	Моча, 3-я группа		34 ± 18

В результате показано, что концентрации ГА в крови и моче в хроническом эксперименте зависят от дозы токсиканта и коррелируют между собой. За 24 ч из крови экскреция ГА происходит на 90%. Полученные результаты говорят о том, что даже при низкоуровневом воздействии небольшие концентрации гидроксилamina сохраняются в кровотоке, несмотря на высокую реакционную способность.

Заклучение. Количественное определение гидроксилamina в плазме крови и мочи с использованием впервые предложенной методики возможно на уровне 30 нг/мл при использовании ГХ-МС с одним квадруполом в режиме мониторинга избранных ионов и на уровне 0,1 нг/мл при использовании ГХ-МС с системой трёх квадруполов в режиме мониторинга множественных реакций.

Показано, что при использовании ГХ-МС возможно проводить диагностику острых отравлений гидроксилamiном ($\frac{1}{2}$ LD₅₀), но для диагностики хронического воздействия ГА на организм (до 22,6 мкг/кг с питьевой водой) необходимо использовать более чувствительное тандемное масс-селективное детектирование.

Литература

1. Hui A., Jinyi L., Lujun Y., Shengxue L., Yanhong Z., Huan Y., Qingjun J. Acute and subchronic toxicity of hydroxylammonium nitrate in Wistar rats // J. Med. Coll. PLA. 2008. Vol. 23. P. 137–147.
2. Gross P. Biologic activity of hydroxylamine: a review // Crit. Rev. Toxicol. 1985. Vol. 14, N 1. P. 87–99.
3. Kinkead E. R., Wolfe R. E., Salins S. A. General toxicity and reproductive screen of liquid propellant XM46 administered in the drinking water of Sprague–Dawley rats // Toxicol. Ind. Health. 1995. Vol. 11, N 2. P. 199–215.
4. Lombardi F., Crolla T. Determination of hydroxylamine traces in propionohydroxamic acid bulk drug and pharmaceutical preparations by capillary gas chromatography // J. Pharm. Sci. 1988. Vol. 77, N 8. P. 711–714.
5. Guzowski J. P., Golanoski C., Montgomery E. R. A gas chromatographic method for the indirect determination of hydroxylamine in pharmaceutical preparations: conversion into nitrous oxide // J. Pharm. Biomed. Anal. 2003. Vol. 33, N 5. P. 963–974.
6. Seike Y., Fukumori R., Senga Y., Oka H., Fujinaga K., Okumura M. A simple and sensitive method for the determination of hydroxylamine in fresh-water samples using hypochlorite followed by gas chromatography // Anal. Sci. 2004. Vol. 20, N 1. P. 139–142.
7. Crafts R. C., Davey J. E. Investigations into the determination of hydroxylamine in viscosity-stabilised natural rubber // J. Nat. Rubb. Res. 1996. Vol. 11, N 1. P. 1–8.
8. Fernando P. N., Egwu I. N., Hussain M. S. Ion chromatographic determination of trace hydroxylamine in water streams generated by a pharmaceutical reaction process // J. Chromatogr. (A). 2002. Vol. 956, N 1–2. P. 261–270.
9. Deepa B., Balasubramanian N., Nagaraja K. S. Spectrophotometric determination of hydroxylamine and its derivatives // Chem. Pharm. Bull. 2004. Vol. 52, N 12. P. 1473–1475.
10. Gupta V. K., Karimi-Maleh H., Sadegh R. Simultaneous determination of hydroxylamine, phenol and sulfite in water and waste water samples using a voltammetric nanosensor // Int. J. Electrochem. Sci. 2015. Vol. 10. P. 303–316.
11. Afkhami A., Madrakian T., Maleki A. Spectrophotometric determination of hydroxylamine and nitrite in mixture in water and biological samples after micelle-mediated extraction // Anal. Biochem. 2005. Vol. 347. P. 162–164.
12. Peng S. X., Strojnowski M. J., Hu J. K., Smith B. J., Eichhold T. H. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of hydroxylamine for monitoring the metabolic hydrolysis of metalloprotease inhibitors in rat and human liver microsomes // J. Chromatogr. (B). 1999. Vol. 724. P. 181–187.
13. Darke D. J. Method for the measurement of hydroxylamine in colonic fluid using derivatization and gas chromatography // J. Chromatogr. 1980. Vol. 181. P. 449–452.
14. Уколов А. И., Уколова Е. С., Савельева Е. И., Радилов А. С. Систематический токсиколого-аналитический скрининг биологических образцов методом газовой хромато-масс-спектрометрии. Апробация метода идентификации токсичных органических соединений // Токсикол. вестн. 2014. № 2. С. 39–45.
15. Уколов А. И., Каракашев Г. В., Уколова Е. С., Савельева Е. И., Радилов А. С. Систематический токсиколого-аналитический скрининг биологических образцов методом хроматомасс-спектрометрии. Примеры обнаружения диазепема, трамадола и прозерина // Масс-спектрометрия. 2013. Т. 10, № 2. С. 120–129.
16. Cathum S., Atamaniouk V., Ananieva L., Ladanowski C., Whittaker H. Gas chromatography — mass spectrometric determination of unsymdimethylhydrazine in soil and water by derivatization with aromatic aldehydes // Can. J. Chem. Eng. 1998. Vol. 76. P. 680–685.

References

1. Hui A., Jinyi L., Lujun Y., Shengxue L., Yanhong Z., Huan Y., Qingjun J. Acute and subchronic toxicity of hydroxylammonium nitrate in Wistar rats. *J. Med. Coll. PLA*, 2008, vol. 23, pp. 137–147.
2. Gross P. Biologic activity of hydroxylamine: a review. *Crit. Rev. Toxicol.*, 1985, vol. 14, no 1, pp. 87–99.
3. Kinkead E. R., Wolfe R. E., Salins S. A. General toxicity and reproductive screen of liquid propellant XM46 administered in the drinking water of Sprague—Dawley rats. *Toxicol. Ind. Health*, 1995, vol. 11, no 2, pp. 199–215.
4. Lombardi F., Crolla T. Determination of hydroxylamine traces in propionohydroxamic acid bulk drug and pharmaceutical preparations by capillary gas chromatography. *J. Pharm. Sci.*, 1988, vol. 77, no 8, pp. 711–714.
5. Guzowski J. P., Golanoski C., Montgomery E. R. A gas chromatographic method for the indirect determination of hydroxylamine in pharmaceutical preparations: conversion into nitrous oxide. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2003, vol. 33, no 5, pp. 963–974.
6. Seike Y., Fukumori R., Senga Y., Oka H., Fujinaga K., Okumura M. A simple and sensitive method for the determination of hydroxylamine in fresh-water samples using hypochlorite followed by gas chromatography. *Anal. Sci.*, 2004, vol. 20, no 1, pp. 139–142.
7. Crafts R. C., Davey J. E. Investigations into the determination of hydroxylamine in viscosity-stabilised natural rubber. *J. Nat. Rubb. Res.*, 1996, vol. 11, no 1, pp. 1–8.
8. Fernando P. N., Egwu I. N., Hussain M. S. Ion chromatographic determination of trace hydroxylamine in waste streams generated by a pharmaceutical reaction process. *J. Chromatogr. (A)*, 2002, vol. 956, no 1–2, pp. 261–270.
9. Deepa B., Balasubramanian N., Nagaraja K. S. Spectrophotometric determination of hydroxylamine and its derivatives. *Chem. Pharm. Bull.*, 2004, vol. 52, no 12, pp. 1473–1475.
10. Gupta V. K., Karimi-Maleh H., Sadegh R. Simultaneous determination of hydroxylamine, phenol and sulfite in water and waste water samples using a voltammetric nanosensor. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2015, vol. 10, pp. 303–316.
11. Afkhami A., Madrakian T., Maleki A. Spectrophotometric determination of hydroxylamine and nitrite in mixture in water and biological samples after micelle-mediated extraction. *Anal. Biochem.*, 2005, vol. 347, pp. 162–164.
12. Peng S. X., Strojnowski M. J., Hu J. K., Smith B. J., Eichhold T. H. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of hydroxylamine for monitoring the metabolic hydrolysis of metalloprotease inhibitors in rat and human liver microsomes. *J. Chromatogr. (B)*, 1999, vol. 724, pp. 181–187.
13. Darke D. J. Method for the measurement of hydroxylamine in colonic fluid using derivatization and gas chromatography. *J. Chromatogr.*, 1980, vol. 181, pp. 449–452.
14. Ukolov A. I., Ukolova E. S., Savelieva E. I., Radilov A. S. Sistematičeskii toksikologo–analitičeskii skringing biologičeskikh obraztsov metodom gazovoi khromato–mass–spektrometrii. Aprobatsiia metoda identifikatsii toksičnykh organičeskikh soedinenii [Systematic toxicological screening of biological samples with GC-MS and HPLC-MS. Approbation of identification of toxic organic compounds]. *Toksikologičeskii vestnik [Toxicological Bulletin]*, 2014, no 2, pp. 39–45. (In Russian)
15. Ukolov A. I., Karakashev G. V., Ukolova E. S., Savelieva E. I., Radilov A. S. Sistematičeskii toksikologo–analitičeskii skringing biologičeskikh obraztsov metodom khromatomass–spektrometrii. Primeiry obnaruzheniia diazepam, tramadola i prozerina [Systematic toxicological screening of biological samples with GC-MS and HPLC-MS. Examples of determination of diazepam, tramadol and prozerine]. *Mass-spektrometrija [Mass spectrometry]*, 2013, vol. 10, no 2, pp. 120–129. (In Russian)
16. Cathum S., Atamaniouk V., Ananieva L., Ladanowski C., Whittaker H. Gas chromatography — mass spectrometric determination of unsymdimethylhydrazine in soil and water by derivatization with aromatic aldehydes. *Can. J. Chem. Eng.*, 1998, vol. 76, pp. 680–685.

Статья поступила в редакцию 25 апреля 2017 г.

Контактная информация

Уколов Антон Игоревич — кандидат химических наук; e-mail: antonukolov@gmail.com

Радилов Андрей Станиславович — доктор медицинских наук, профессор; e-mail: radilov@rihophe.ru

Ukolov A. I. — PhD; e-mail: antonukolov@gmail.com

Radilov A. S. — Doctor of Medicine, Professor; e-mail: radilov@rihophe.ru