



УДК 543.544.45:543.51

Анализ 1,1-диметилгидразина в виде производных с изотиоцианатами методом офф-лайн ВЭЖХ – МАЛДИ-МС

Парамонов С.А., Ульянов А.В., Буряк А.К.

Учреждение Российской академии наук Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва

Поступила в редакцию 20.04.2010 г.

Аннотация

Изучена возможность анализа 1,1-диметилгидразина в виде его производного с изотиоцианатами. Исследовано влияние параметров хроматографической системы на характеристики удерживания. Осуществлено применение метода масс-спектрометрии матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией в качественном определении 1,1-диметилгидразина.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография, матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация, масс-спектрометрия, 1,1 – диметилгидразин, тиосемикарбазиды

The analysis possibility of 1,1-dimethylhydrazine as its derivatives with isothiocyanates was reported. Influence of chromatographic system parameters on retention characteristics was investigated. Using of matrix-assisted laser/desorption/ionisation mass spectrometry method in qualitative analysis of 1,1-dimethylhydrazine was studied.

Key words: high performance liquid chromatography, matrix-assisted laser/desorption/ionisation mass spectrometry, 1,1-dimethylhydrazine, thiosemicarbazides

Введение

Для определения 1,1-диметилгидразина (НДМГ) – высокореакционноспособного компонента ракетного топлива, предложены хроматографические [1-3] и хромато-масс-спектрометрические методы [4-8], основанные на получении производных НДМГ с карбонильными соединениями и карбоновыми кислотами.

Соединения с изотиоцианатной группой нашли широкое применение в хроматографическом определении аминсоединений [9-11]. Алифатические изотиоцианаты использовались в качестве дериватирующих реагентов в газохроматографическом определении НДМГ с масс-спектрометрическим детектированием [12]. Тем не менее, соединения данного класса не использовались для анализа НДМГ методами жидкостной хроматографии.

Масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ-МС) традиционно используется при анализе синтетических и биологических полимеров. Развивается и МАЛДИ-МС анализ низкомолекулярных соединений, что обусловлено возможностью анализировать смеси сложного состава, получая протонированные и или катионизированные молекулярные ионы компонентов [13].

Целями настоящего исследования были: исследовать хроматографическое и масс-спектрометрическое с ионизацией МАЛДИ поведение продуктов дериватизации НДМГ различными изотиоцианатами и оценить возможность его идентификации на основе хроматографических и масс-спектрометрических данных.

Эксперимент

В работе использовали метанол для ВЭЖХ и трифторуксусную кислоту (Aldrich, USA), дитранол, 2,5-дигидроксibenзойную кислоту (ДГБК), α -циано-4-гидроксикоричную кислоту (ЦГКК) (Acros Organics, Бельгия). Исследуемые 1,1-диметил-4-R-тиосемикарбазиды (ТС) (ДМЭТС - R = этил, ДМАТС - R = аллил, ДМФТС - R = фенил) были синтезированы из 1,1-диметилгидразина и соответствующих изотиоцианатов по методике [14].

Хроматографический анализ проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1200. Детектирование осуществлялось УФ диодно-матричным детектором Agilent G1315B. Хроматографические разделения проводили на хроматографических колонках: Zorbax-CN (зерно 5 мкм) с размерами 4,6x150 мм (DuPont, США), Zorbax Eclipse XDB C-18 (зерно 5 мкм) с размерами 4,6x150 мм (Agilent, США), HyperCarb (зерно 5 мкм) с размерами 2,1x100 мм (Thermo, США) в изократическом режиме при скорости элюента 0,5 мл/мин. Объем вводимой пробы 20 мкл.

Масс-спектрометрические эксперименты с ионизацией МАЛДИ выполнены на масс-спектрометре Bruker Ultraflex II TOF, оборудованным азотным лазером с $\lambda = 337$ нм и частотой лазерного импульса 20 Гц. Ускоряющее напряжение и напряжение на рефлектроне 25 и 26,5 кВ соответственно. Спектры получены в режиме положительных ионов с использованием рефлектрона в диапазоне масс 20-400 Д. Калибровку масс осуществляли по методам внешнего и внутреннего стандарта, используя значения масс пиков ионов матриц. МС-МС спектры фрагментации после ионного источника родительских метастабильных протонированных молекулярных ионов ТС регистрировали с помощью метода FAST.

Растворы матриц: дитранол, ДГБК, ЦГКК с концентрацией 1 мг/мл приготовлены в 80 % метаноле.

Подготовку образцов к масс-спектрометрическому исследованию осуществляли следующим образом: на поверхность мишени (AnchorChip 600 μm , Bruker, Германия) для проб наносили 1 мкл матрицы, высушивали при комнатной температуре, наносили 1 мкл анализируемого раствора, растворитель испаряли на воздухе. Далее добавляя 1 мкл метанола, проводили перерастворение полученных точек на мишени во избежание образования крупных кристаллов.

Масс-спектры электронной ионизации исследуемых соединений получены на масс-спектрометре JEOL DMS-300 с прямым вводом образца в режиме положительных ионов и диапазоне масс 40-450 Д. Энергия ионизирующих электронов 70 эВ. Ускоряющее напряжение 3 кВ. Ток ионизации 300 мкА.

Обсуждение результатов

В ходе исследования закономерностей удерживания ТС на сорбентах различной природы, обнаружено, что удерживание аналитов на силикагеле с привитыми цианопропильными группами является очень слабым и характеризуется сильным размытием заднего фронта хроматографических пиков. При хроматографировании ТС на колонке с привитыми октадецильными группами наблюдается более сильное взаимодействие сорбата с сорбентом, что приводит к увеличению удерживания. При этом хроматографические пики аналитов являются более симметричными, (коэффициент асимметрии $> 0,85$), хотя и наблюдается незначительное размытие заднего фронта пиков. При хроматографировании ТС на углеродном сорбенте на основе пористого углеродного материала, позволяющем, как считается [15], анализировать вещества полярной природы, обнаружено, что сорбент проявляет повышенное сродство к сорбатам рис. 1.

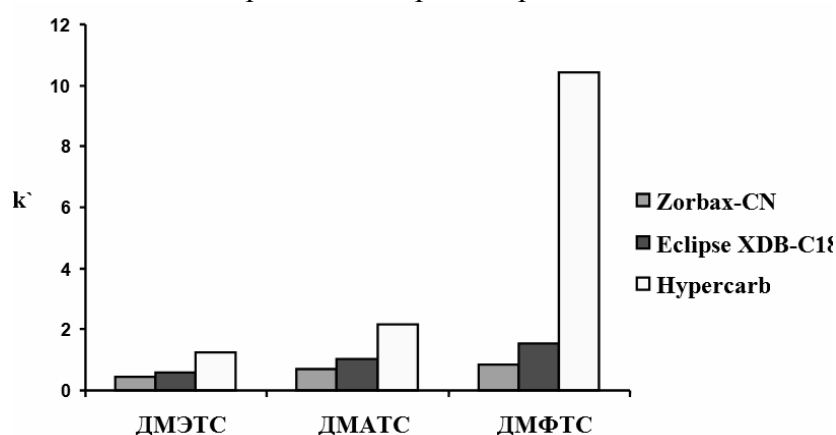


Рис. 1. Влияние природы сорбента на удерживание ТС

Увеличение удерживания полярных ТС может быть объяснено не только увеличением гидрофобности заместителя при переходе от этильного заместителя к фенильному, а также за счет взаимодействий p и π - электронов сорбата с поверхностью сорбента. Как и в случаях с сорбентами на основе силикагеля задний фронт хроматографических пиков производных 1,1-ДМГ является размытым. Селективность разделения пары ДМЭТС и ДМАТС, отличающихся на метиленовую группу является максимальной при использовании углеродного сорбента и порядок элюирования не зависит от типа сорбента.

В виду того, что состав подвижной фазы (ПФ) может существенно влиять на хроматографическое поведение соединений, нами исследовано влияние содержания органического модификатора и трифторуксусной кислоты. Найдено, что удерживание ТС на исследуемых сорбентах закономерно увеличивается по мере снижения доли органического модификатора и трифторуксусной кислоты (ТФУ). Следует отметить, что добавка ТФУ оказывает меньшее влияние на удерживание ДЭТС и ДМАТС, чем на ДМФТС.

Диэтиламин (ДЭА) – модификатор, введение которого в состав подвижной фазы позволяет улучшать форму хроматографических пиков полярных веществ основной природы и варьировать времена удерживания для сильноудерживаемых соединений [16]. В виду слабоосновного характера исследуемых веществ целесообразным было исследовать влияние ДЭА на характеристики удерживания ТС на углеродном сорбенте. Установлено, что добавка ДЭА приводит к уменьшению времен удерживания ТС, но вместе с этим наблюдается более значительное

размытие хроматографических пиков, приводящее к снижению разрешающей способности колонки, при этом пик ДМФТС едва детектируем на хроматограмме рис. 2.

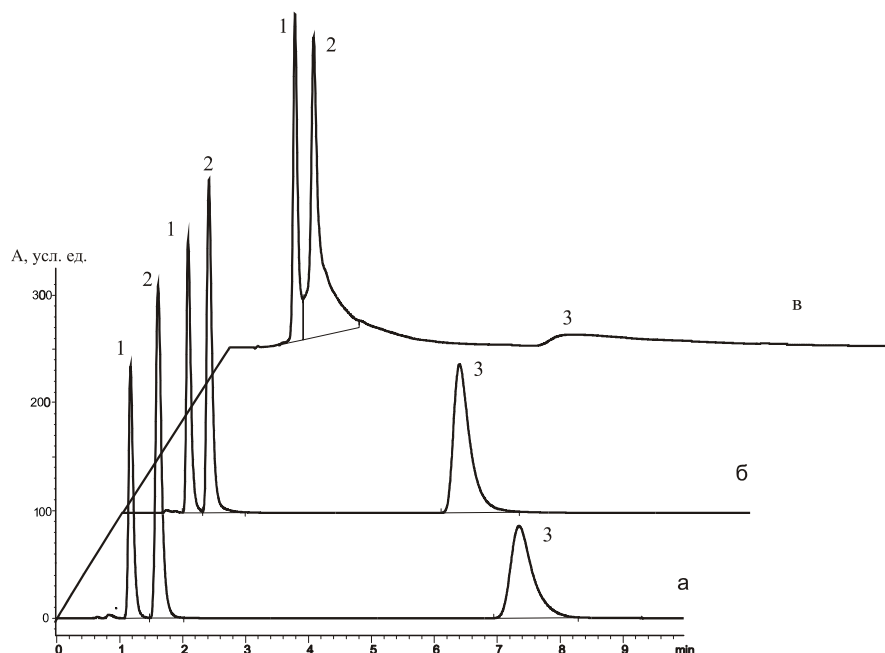


Рис. 2. Хроматограммы разделения смеси ТС на углеродном сорбенте: а) элюент 50/50 метанол - вода (v/v), б) элюент 50 % метанол и 50% 0,1% -го водного раствора ТФУ (v/v), в) элюент 50 % метанол и 50% 0,1% -го водного раствора ДЭА (v/v). 1 – ДЭТС, 2 – ДМАТС, 3 – ДМФТС. Детектирование УФ при $\lambda = 240$ нм

Для анализа НДМГ в виде ТС наиболее подходящими неподвижными фазами являются силикагель с привитыми октадецильными группами и углеродный сорбент. Оптимальным составом подвижной фазы для разделения ТС до базовой линии является вода с содержанием метанола 50%, в случае углеродного сорбента необходимо применение модификатора ТФУ для получения более узких пиков.

Аналитические характеристики ТС: пределы обнаружения, линейный диапазон и коэффициент корреляции, полученные на колонке Eclipse-C18, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Аналитические характеристики ТС ($n=3$, $P=0,95$)

Соединение	Предел обнаружения, мкг/л ($S/N = 3$)	Линейный диапазон, мкг/л	Уравнение градуировочной кривой	Коэффициент корреляции, R^2
ДМЭТС	5	25-500	$y=0,1621x+0,0913$	0,9998
ДМАТС	3	25-500	$y=0,149x-1,0714$	0,9998
ДМФТС	5	25-250	$y=0,0836x+0,7803$	0,9994

В целях дальнейшего изучения свойств ТС нами исследовано их поведение в условиях масс-спектрометрии с лазерной/десорбцией ионизацией (ЛДИ-МС) в отсутствие матрицы. Обнаружено, что данные вещества трудно ионизируются в условиях лазерной ионизации, что связано с отсутствием поглощения ТС лазерного излучения при $\lambda = 337$ нм рис. 3.

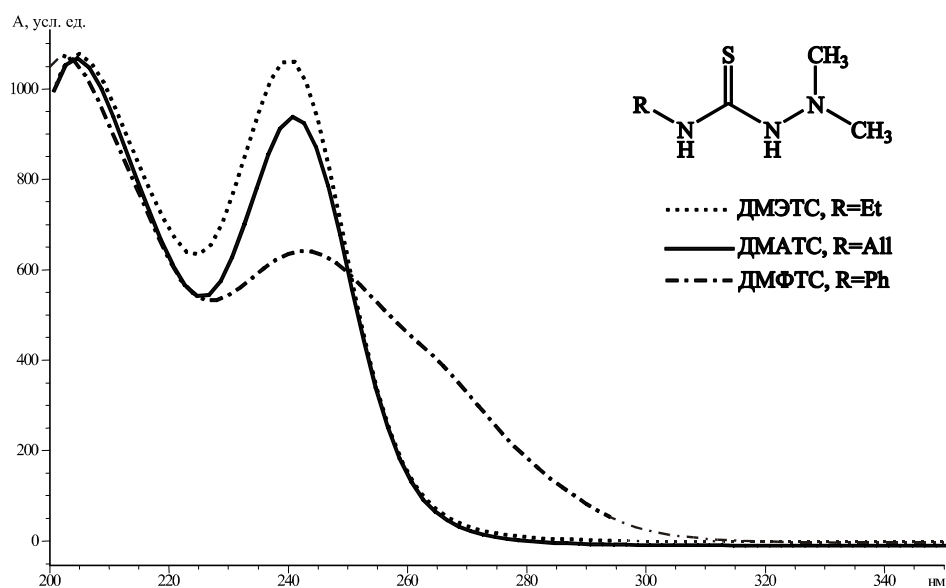


Рис. 3. УФ-спектры поглощения ТС

Тем не менее, удалось зарегистрировать масс-спектры при содержании ТС на уровне и выше 5 нг. В масс-спектрах ТС присутствуют пики протонированных и катионизированных молекулярных ионов таблица 2. Следует отметить, что абсолютная интенсивность пиков ионов ТС является невысокой, что исключает применимость ЛДИ-МС в качественном анализе НДМГ в виде его производных с изотиоцианатами.

Таблица 2. Данные относительной интенсивности, S/N пиков квазимолекулярных ионов в условиях ЛДИ-МС. (Абсолютное количество ТС на мишени 50 нг).

Соединение	Ион	m/z	Относительная интенсивность, %	S/N
ДМАТС	$[M+H]^+$	160,005	65 ($K^+ = 100$)	245
	$[M+Na]^+$	181,996	6.6	29
	$[M+K]^+$	197,984	7	31
ДМЭТС	$[M+H]^+$	147,990	100	27
	$[M+Na]^+$	169,976	27	11
	$[M+K]^+$	185,952	17	6
ДМФТС	$[M+H]^+$	195,992	100	114
	$[M+Na]^+$	217,957	40	46
	$[M+K]^+$	233,920	59	67

В целях повышения чувствительности масс-спектрометрического анализа ТС нами исследована возможность применения различных матриц в условиях ионизации МАЛДИ.

Выбранные нами для исследования ЦГКК и ДГБК являются известными матрицами, широко используемыми в анализе низкомолекулярных соединений [13]. Так в масс-спектрах МАЛДИ производных НДМГ с изотиоцианатами присутствуют пики протонированных и катионизированных натрием и калием молекулярных ионов рис. 4.

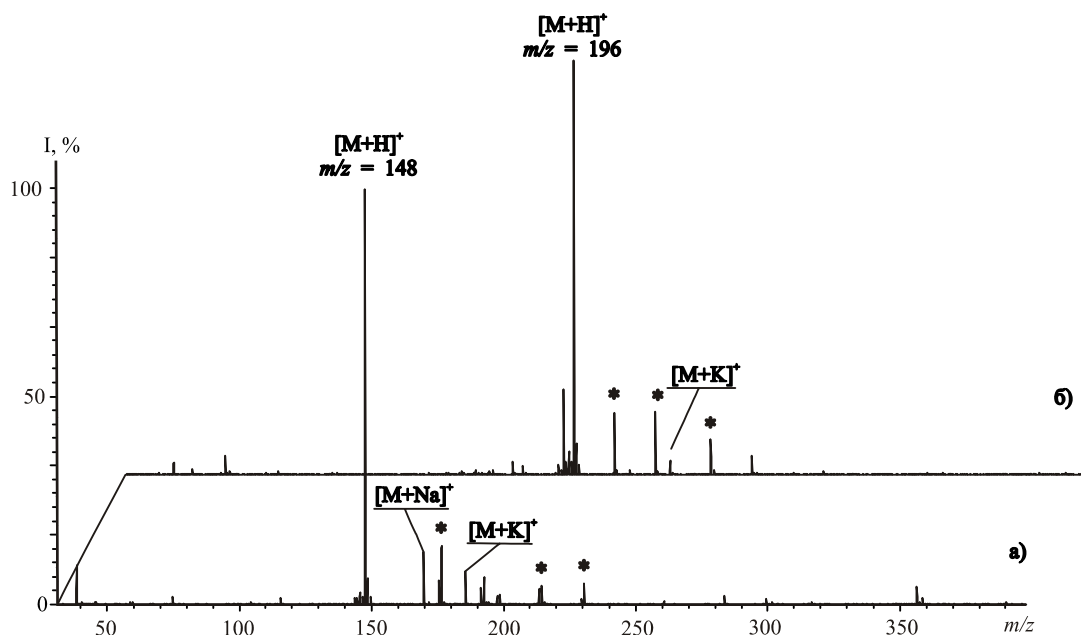


Рис. 4. МАЛДИ масс-спектры: а) ДМЭТС в присутствии ДГБК, б) ДМФТС в присутствии ЦГКК. *-Пики ионов матрицы

Наряду с указанными выше пиками ионов в масс-спектрах МАЛДИ присутствуют пики ионов молекулярных ассоциатов аналитов с матрицей и пики фрагментных ионов, обусловленных элиминированием диметиламина и диметилгидразина. Применение ДГБК в качестве матрицы позволяет определять ТС на более низком уровне по сравнению с ЦГКК таблица 3.

При использовании пиков ионов матриц в качестве внутреннего стандарта при калибровке шкалы масс достигнута точность определения масс не хуже $\Delta m \leq 0,005$ Да.

Таблица 3. Пределы обнаружения ТС с различными матрицами ($S/N \approx 10$).

Производное НДМГ	Предел обнаружения, мг/л		
	ЦГКК	ДГБК	Дитранол
ДМЭТС	-	0,1	10
ДМАТС	1	1	10
ДМФТС	1	0,01	1

Следует отметить, что применение ЦГКК осложняется наличием значительного числа фрагментных ионов, например, пик иона $[\text{ЦГКК}+\text{H}-\text{CO}_2]^+$ с $m/z = 146,061$ и пик его изотопного иона с $m/z = 148,066$ интерферирует с протонированным молекулярным ионом $[\text{ДМЭТС}+\text{H}]^+$ с $m/z = 148,091$. В виду низкого разрешения и уширенных пиков ионов в данной области не представляется возможным анализировать НДМГ в виде ДМЭТС на микроуровне с этой матрицей.

Чтобы устранить влияние фрагментных ионов матрицы в диапазоне масс 20 - 200 Д может быть использован дитранол ($m/z = 227$) рис. 5. Тем не менее, применение дитранола оказывается нецелесообразным в виду более высоких пределов обнаружения таблица 3.

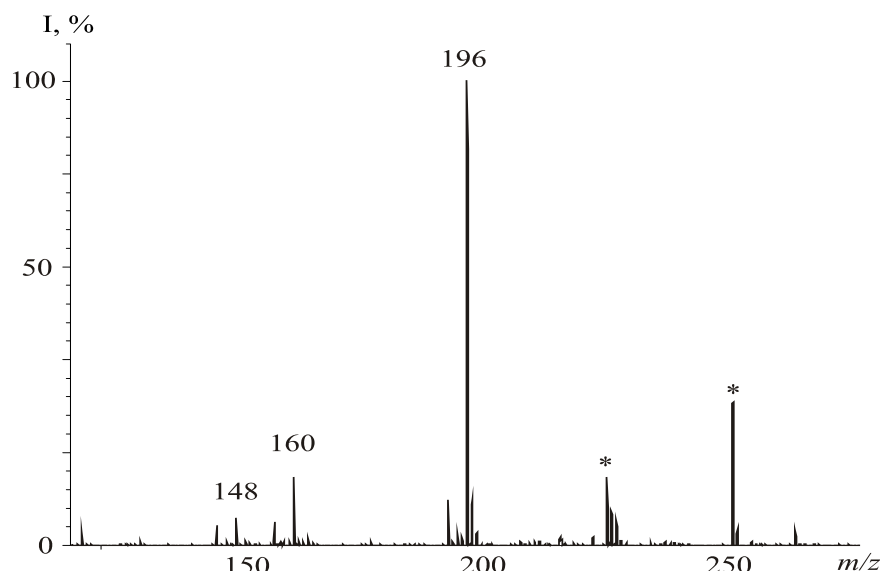


Рис. 5. МАЛДИ масс-спектр смеси ДМЭТС $m/z = 148$, ДМАТС $m/z = 160$, ДМФТС $m/z = 196$ (содержание ТС на мишени 1 нмоль). *-Пики ионов дитранола

Известно, что наличие пиков характеристических ионов в масс-спектрах ионизации электронами ДМЭТС и ДМАТС позволяет надежно идентифицировать определяемые соединения [12]. В связи с этим нами исследованы процессы фрагментации метастабильных протонированных молекулярных ионов протекающие после ионного источника в условиях МАЛДИ-МС. Так в масс-спектрах фрагментации родительских ионов присутствуют: пики квазимолекулярных ионов $[ТС+Н]^+$ и пики характеристических ионов с $m/z = 46, 61, 78, 103$ таблица 4.

Таблица 4. Данные масс-спектров электронной ионизации (ЭИ) ионов $[ТС]^+$ и фрагментации родительских метастабильных ионов $[ТС+Н]^+$ в условиях МАЛДИ-МС

Производное НДМГ	Тип ионизации	
	ЭИ, m/z	МАЛДИ, m/z
ДМЭТС	44, 45, 59, 60, 104	46, 61, 78, 103, 114
ДМАТС	44, 45, 59, 60, 115, 116	46, 58, 61, 78, 103, 115, 126
ДМФТС	44, 45, 59, 60, 77, 93, 152, 161	46, 61, 78, 103, 152, 162

Пути фрагментации метастабильных ионов $[ТС+Н]^+$ связаны с элиминированием нейтральных аминсоединений: этиламина, аллиламина, анилина и диметилгидразина. Пики указанных соединений регистрируются в виде соответствующих протонированных молекулярных ионов. Также наблюдается выброс из квазимолекулярных ионов ТС молекулы сероводорода, схема 1.

Особое значение в идентификации НДМГ как производного с изотиоцианатами в методе МАЛДИ-МС представляет ион с $m/z = 78$, образование которого не зависит от заместителя в положении 4, и связано только с наличием в структуре анализируемых соединений остатка диметилгидразина, тогда как в масс-спектрах ионизации электронами такого иона не наблюдается. Следует отметить также сходство во фрагментации молекулярного иона ДМФТС в режимах ионизации электронами и МАЛДИ рис. 6.

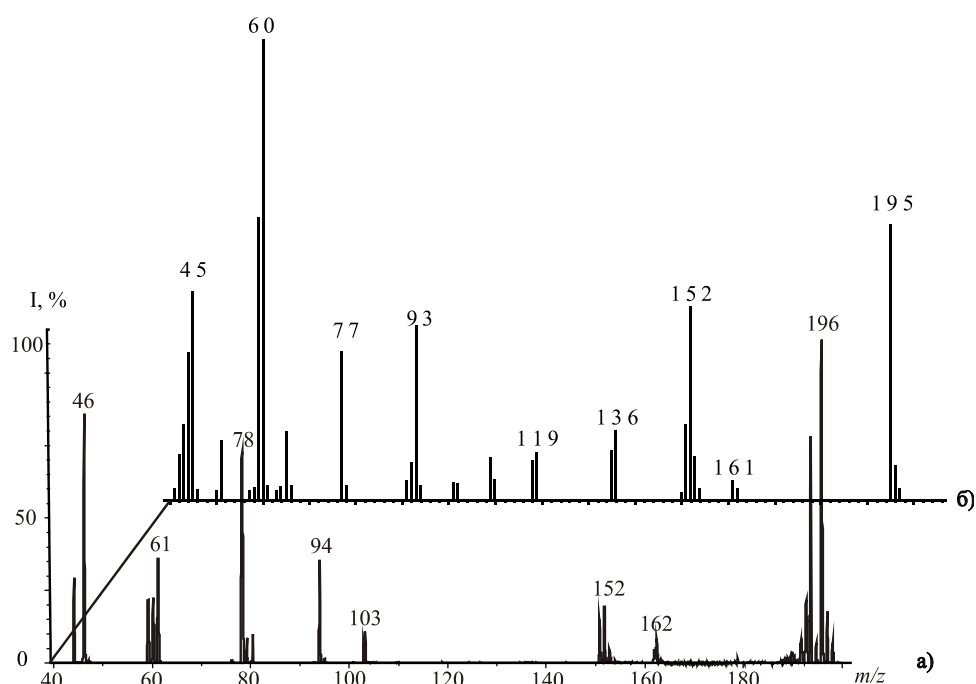
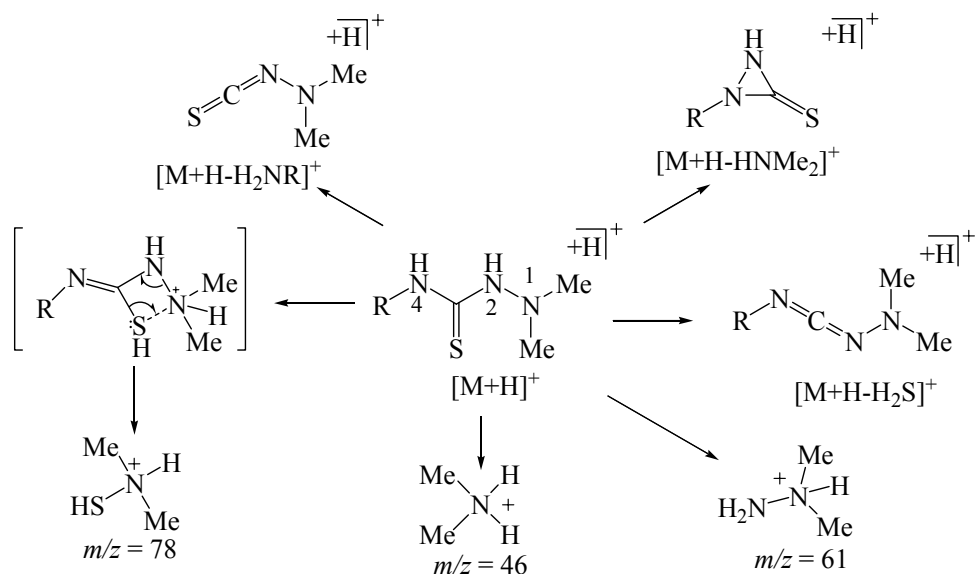


Рис. 6. а) Масс-спектр фрагментации метастабильного протонированного иона ДМФТС $[M+H]^+$ $m/z = 196$, ионизация МАЛДИ, б) Масс-спектр ДМФТС $[M]^+$ $m/z = 195$, ионизация электронами

Заключение

Применение 1,1-диметил-4-R-тиосемикарбазидов позволяет идентифицировать и количественно определять НДМГ на уровне мкг/л. Повышение надежности анализа по сравнению с использованием стандартных хроматографических методов достигается за счет уникальной фрагментации родительских квазимолекулярных ионов анализируемых соединений.

Работа выполнена при поддержке научной школы НШ – 7853.2010.3.

Список литературы

1. Holtzclaw J.R., Rose S.L., Wyatt J.R. Simultaneous determination of hydrazine, methylhydrazine, and 1,1-dimethylhydrazine in air by derivatization/gas chromatography // *Anal. Chem.* 1984. V. 56. Iss. 14. P. 2952-2956.
2. Затираха А.В., Смоленков А.Д., Елфимова Я.А., Шпигун О.А. Высококчувствительное ионохроматографическое определение 1,1-диметилгидразина // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2009. Т. 9. Вып. 4. С. 545-556.
3. Деннисов А.А., Смоленков А.Д., Шпигун О.А. Определение 1,1-диметилгидразина методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием в виде производного 4-нитробензальдегидом // *Журн. аналит. химии.* 2004. Т. 59. №5. С. 511-515.
4. Савчук С.А., Бродский Е.С., Формановский А.А. Применение капиллярной газовой хроматографии с селективным детектированием для определения несимметричного диметилгидразина в почве // *Журн. аналит. химии.* 1998. Т. 53. N7. С. 759-763.
5. Самсонов Д.П., Борновалова Г.В., Первунина Р.И., Жирюхина Н.П. Хромато-масс-спектрометрическое определение N,N-диметилгидразина в почве // *Журн. аналит. химии.* 1998. Т. 53. №2. С. 191-194.
6. Буряк А.К., Татаурова О.Г., Ульянов А.В. ГХ-МС исследование продуктов трансформации несимметричного диметилгидразина на модельных сорбентах // *Масс-спектрометрия.* 2004. Т. 1. №2. С. 147-152.
7. Rutschmann M.A., Buser H.R. Determination of daminozide and dimethylhydrazine residues in Swiss apple juice concentrates using gas chromatography-mass spectrometry // *J. Agric. Food Chem.* 1991. V. 39. Iss. 1. P. 176-181.
8. Majumdar T.K., Geno P.W., Yau A. Determination of daminozide residues at very low levels in fruits by gas chromatography/mass spectrometry // *J. Agric. Food Chem.* 1995. V. 43. Iss. 6. P. 1421.
9. Blau K., Halket J.M. *Handbook of derivatives for chromatography.* Wiley. Chichester. 1993. P. 162.
10. Bhushan S., Archana J., Krishna K.V. Determination of ammonia and aliphatic amines in environmental aqueous samples utilizing pre-column derivatization to their phenylthioureas and high performance liquid chromatography // *Analyst.* 1999. V. 124. Iss. 7. P. 1017-1021.
11. Vandana S., Manju G., Archana J., Krishna K.V. Determination of aromatic primary amines at $\mu\text{g l}^{-1}$ level in environmental waters by gas chromatography-mass spectrometry involving N-allyl-N'-arylthiourea formation and their on-line pyrolysis to aryl isothiocyanates // *J. Chromatogr. A.* 2003. V. 1010. P. 243-253.
12. Парамонов С.А., Ульянов А.В., Буряк А.К. Изотиоцианаты как дериватирующие реагенты в определении 1,1-диметилгидразина методом газовой хроматографии масс-спектрометрии // *Изв. АН, сер. хим.* 2010, № 3. С. 25-30.
13. Cohen L.H., Gusev A.I. Small molecule analysis by MALDI mass spectrometry // *Anal. Bioanal. Chem.* 2002. V. 373. №7. P. 571.
14. Jensen K.A., Antoni U., Kagi B., Larsen C., Pedersen C.T. Studies of thioacids and their derivatives. IX Thiosemicarbazides // *Acta Chem. Scand.* 1968. V. 22. P. 1-50.
15. Forgacs E. Retention characteristics and practical applications of carbon sorbents // *J. Chromatogr. A.* 2002. V. 975. P. 229-243.
16. Wan Qian-Hong, Davies M.C., Shaw P.N., Barrett D.A. Retention behavior of ionizable isomers in reversed-phase liquid chromatography: a comparative study of porous

graphitic carbon and octadecyl bonded silica // Anal. Chem. 1996. V. 68. Iss. 3 .P. 437-446.

Парамонов Сергей Александрович – аспирант. м.н.с., Учреждение Российской академии наук Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва

Ульянов Алексей Владимирович – в.н.с., к.х.н., Учреждение Российской академии наук Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва, тел. 8(495) 330-19-29

Буряк Алексей Константинович – зав. лаб., д.х.н., Учреждение Российской академии наук Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва

Paramonov Sergei A. – post-graduate student, Institution of Russian Academy of Science A.N. Frumkin Institute Of Physical Chemistry And Electrochemistry of RAS, Moscow, e-mail: chrom-ms@mail.ru

Uleanov Aleksey V. – Dr. Sc. Chem, Institution of Russian Academy of Science A.N. Frumkin Institute Of Physical Chemistry And Electrochemistry of RAS, Moscow

Buryak Aleksey K. – Chief of laboratory, Dr. Sc. Chem., Institution of Russian Academy of Science A.N. Frumkin Institute Of Physical Chemistry And Electrochemistry of RAS, Moscow