

## VYUŽITÍ KAPILÁRNÍ ZÓNOVÉ ELEKTROFORÉZY PRO ANALÝZU SMĚSÍ HYDRAZINU A JEHO METHYLDERIVÁTŮ

PETRA HRNČÍŘOVÁ, IVAN JELÍNEK,  
JIŘÍ ZIMA a JIŘÍ BAREK

*Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha 2, e-mail: ijelinek@prfdec.natur.cuni.cz*

Došlo dne 3.VII.1997

### Úvod

Hydrazin a jeho methylderiváty (1-methylhydrazin, 1,1-dimethylhydrazin a 1,2-dimethylhydrazin) patří mezi látky s prokázanými karcinogenními účinky ve vztahu k experimentálním zvířatům a s pravděpodobnými karcinogenními účinky i u člověka. Toxické a genotoxické účinky těchto látek, které byly shrnuty v přehledech<sup>1,4</sup>, mají za následek stále rostoucí poptávku po stanovení stopových množství těchto látek. Studium jejich synergických účinků pak vyžaduje účinné dělicí metody, umožňující analýzu jejich směsí. Dosud byla k těmto účelům nejčastěji používána plynová či kapalinová chromatografie. Z několika desítek prací věnovaných separaci látek tohoto typu je většina zaměřena na dělení hydrazinu a jeho 1-methylderivátu (viz monografie<sup>5</sup>), avšak směs všech čtyř výše uvedených látek dosud analyzována nebyla. Rovněž kapilární zónová elektroforéza byla dosud použita pouze k dělení hydrazinu a jeho 1-methylderivátu<sup>6,7</sup>. Proto jsme v předkládané práci věnovali pozornost možnostem využití kapilární zónové elektroforézy (CZE) k analýze směsi těchto čtyř genotoxických látek.

### Pokusná část

Použité přístroje a chemikálie,  
podmínky měření

Měření byla provedena na přístroji Crystal CE System fy ATI Unicam (Velká Británie) vybaveného UV detektorem Unicam 4225.

Chemikálie použité pro přípravu roztoků nosných elektrolytů byly čistoty p.a. (Lachema, Brno). Složení roztoků a experimentální podmínky měření jsou uvedeny v tabulce I.

Tabulka I

Podmínky měření a použité nosné elektrolyty

|                         |   |
|-------------------------|---|
| Kapilára                | Křemenná s polymidovým potahem a neupraveným vnitřním povrchem 75 $\mu\text{m}$ x 75 cm (60 cm do detektoru) (Composite Metal Services Ltd., UK)                      |
| Teplota termostatu      | 30 °C   |
| Termostatování kapiláry | vzduchové, 30 °C  |
| Dávkování               | Tlakové 1000 Pa/6s  |
| Napětí                  | 20 kV   |
| Proud                   | 30-50 $\mu\text{A}$ v závislosti na použitém nosném elektrolytu   |
| Detekce                 | UV $\lambda = 205 \text{ nm}$   |
| Nosné elektrolyty       | 20 mM tetraboritan sodný pH 9,18<br>20 mM tetraboritan sodný + kyselina boritá pH 8,08 či 7,18<br>20 mM fosforečnan sodný + kyselina fosforečná pH 6,56, 6,16 či 4,95 |

Tabulka II

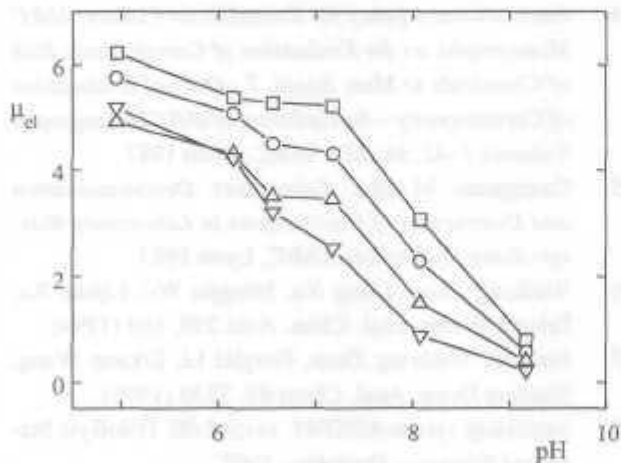
Analyzované látky

| Název                                | Kód   | Čistota <sup>a</sup> [%] | Dodavatel      |
|--------------------------------------|-------|--------------------------|----------------|
| Sulfát hydrazinia                    | Hz    | 99                       | Lachema (Brno) |
| Methylhydrazin báze                  | MHz   | 98                       | Fluka (Buchs)  |
| N,N'-dimethylhydrazin dihydrochlorid | SDMHz | 99                       | Fluka (Buchs)  |
| N,N-dimethylhydrazin báze            | UDMHz | 98                       | Fluka (Buchs)  |

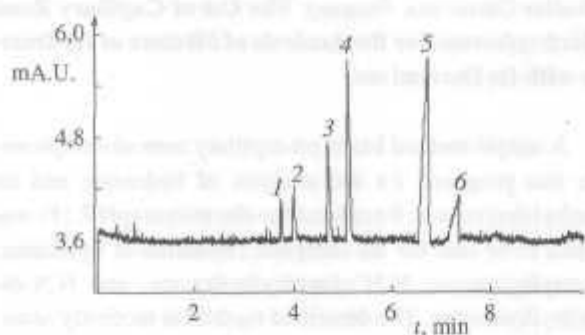
<sup>a</sup> Deklarovaná

Analyzované látky jsou specifikovány v tabulce II. Zásobní roztoky byly připraveny rozpuštěním příslušné látky v deionizované vodě na výslednou koncentraci 0,05 mol.l<sup>-1</sup>. Kalibrační roztoky o koncentracích 2,38.10<sup>-3</sup>;

1,19.10<sup>-3</sup>; 5,95.10<sup>-4</sup>; 2,98.10<sup>-4</sup> a 1,49.10<sup>-4</sup> mol.l<sup>-1</sup> byly připraveny ředěním zásobních roztoků deionizovanou vodou. Modelový roztok, připravený smísením 0,5 ml zásobních roztoků, obsahoval jednotlivé komponenty vždy v koncentracích 1,25.10<sup>-3</sup> mol.l<sup>-1</sup>.



Obr. 1. Závislost efektivní elektroforetické pohyblivosti  $\mu_{\text{el}}$  ( $10^{11}$  cm<sup>2</sup>.V<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>) hydrazinu (□), methylhydrazinu (○), N,N'-dimethylhydrazinu (▲) a N,N-dimethylhydrazinu (▼) na pH



Obr. 2. Záznam separace komponent modelového vzorku v elektrolytovém systému o pH 7,18; 1 - hydrazin, 2 - methylhydrazin, 3 - N,N'-dimethylhydrazin, 4 - N,N-dimethylhydrazin, 5 - thiomocovina, 6 - systémový pík; *t* - migrační čas

Pro určování rychlosti elektroosmotického toku byl použit vodný roztok thiomocoviny (p.a. Lachema, Brno) o koncentraci 3.10<sup>-2</sup> mol.l<sup>-1</sup>.

### Zpracování výsledků

Pro odečtení migračních časů a ploch píků sledovaných látek z elektroforeogramů bylo použito programové vybavení UNICAM 4880 (ATI Unicam, Velká Britanie). Pro hodnocení kalibračních závislostí a určení detekčních limitů byl použit program ADSTAT 2.0 (cit. 8).

### Výsledky a diskuse

Hydrazin a jeho methylované deriváty vykazují poměrně nízkou absorbanci v ultrafialové oblasti, s patrným nárůstem pro vlnové délky pod 220 nm. Předběžné experimenty ukázaly, že využití přímé UV detekce vyžaduje použití elektrolytových systémů s velmi nízkou vlastní absorbancí v oblasti kolem 200 nm. Z tohoto hlediska se jako optimální jeví borátový pufr.

Závislosti efektivních elektroforetických pohyblivostí hydrazinu a jeho methylovaných derivátů korigovaných na rychlost elektroosmotického toku (dále jen efektivní elektroforetická pohyblivost) v rozmezí pH 4,95-9,18, jsou uvedeny na obr. 1. Ze vzájemné polohy experimentálních křivek je zřejmé, že k maximální diferenciaci elektroforetických pohyblivostí hydrazinu a jeho derivátů dochází v elektrolytovém systému o pH 7,18. Právě v této oblasti pH můžeme očekávat optimální separaci všech složek. Elektroforeogram dokumentující separaci hydrazinu a jeho methylderivátů v elektrolytovém systému o pH 7,18 je uveden na obr. 2. Na záznamu jsou patrné úplně oddělené píky všech nadávkovaných komponent. Námi zvolený optimální elektrolytový systém tvořený borátovým pufr

Tabulka III

Parametry kalibračních přímk pro stanovení hydrazinu a jeho methylovaných derivátů pomocí kapilární zónové elektroforézy

| Látka | Směrnice<br>[mA.U.s.mol <sup>-1</sup> .l] | Úsek<br>[mA.U.s] | Korelační<br>koeficient | Koeficient<br>determinace [%] | Detekční limit<br>[mmol.l <sup>-1</sup> ] |
|-------|---|------------------|-------------------------|-------------------------------|---|
| Hz    | 522,7                                     | -0,07            | 0,9892                  | 97,85                         | 19  |
| MHz   | 562,2                                     | -0,04            | 0,9961                  | 99,22                         | 1,1                                       |
| SDMHz | 1498                                      | -0,06            | 0,9995                  | 99,90                         | 0,25                                      |
| UDMHz | 3153                                      | -0,19            | 0,9992                  | 99,84                         | 0,32                                      |

má tudíž vyšší pH než fosfátový pufr o pH 6,96 (cit.<sup>6</sup>) či 5,52 (cit.<sup>7</sup>) dříve doporučený pro dělení samotného hydrazinu od jeho 1-methylderivátu.

Parametry kalibračních závislostí analyzovaných látek (koncentrační rozsah 0,001-0,5 mg.ml<sup>-1</sup>, nosný elektrolyt - pH 7,18) jsou včetně detekčních limitů uvedeny v tabulce III. Z hodnot koeficientů determinace je zřejmé, že získané závislosti jsou ve sledovaném koncentračním rozsahu lineární. Statisticky nevýznamné úseky na osách pořadnic potvrzují, že stanovení není zatíženo systematickou chybou. Vypočtené hodnoty směrnice kalibračních závislostí a detekčních limitů ukazují na pouze průměrnou citlivost metody stanovení. Je zřejmé, že limitujícím faktorem pro dosažitelnou citlivost je použití přímé UV detekce. Podstatného snížení detekčních limitů by zřejmě bylo možno dosáhnout nahrazením spektrofotometrické detekce elektrochemickou, jejíž výrazně vyšší citlivost byla již prokázána u samotného hydrazinu a jeho 1-methylderivátu<sup>6,7</sup>. Tato problematika je v současné době na našem pracovišti intenzivně studována.

Autoři děkují za finanční podporu Fondu rozvoje vysokých škol (grant č. 1230/97).

## LITERATURA

1. *National Institute for Occupational Safety and Health: Occupational Exposure to Hydrazines*. NIOSH 78-172, Washington 1978.
2. *International Agency for Research on Cancer: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Vol. 4.: Some Aromatic Amines, Hydrazines and Related Substances, N-nitrosocompounds and Miscellaneous Alkylating Agents*, str. 127. IARC, Lyon 1974.

3. *International Agency for Research on Cancer: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Suppl. 4.: Chemicals, Industrial Processes and Industries Associated with Cancer in Humans*, str. 136. IARC, Lyon 1982.
4. *International Agency for Research on Cancer: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Suppl. 7.: Overall Evaluations of Carcinogenicity - An Updating of IARC Monographs Volumes 1-42*, str. 223. IARC, Lyon 1987.
5. Castegnaro M.(ed.): *Laboratory Decontamination and Destruction of Carcinogens in Laboratory Wastes: Some Hydrazines*. IARC, Lyon 1983.
6. Weihong Zhou, Liang Xu, Mingjia Wu, Lijuan Xu, Erkang Wang: *Anal. Chim. Acta* 299, 189 (1994).
7. Jun Liu, Weihong Zhou, Fenglei Li, Erkang Wang, Shaojun Dong: *Anal. Chem* 68, 3350 (1996).
8. *Statistický systém ADSTAT, verze 2.00*. TriloByte Statistical Software, Pardubice 1992.

**P. Hrnčířová, I. Jelínek, J. Zima, and J. Barek** (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague*): **The Use of Capillary Zone Electrophoresis for the Analysis of Mixture of Hydrazine with Its Derivatives**

A simple method based on capillary zone electrophoresis was proposed for the analysis of hydrazine and its methyl derivatives. Borate carrier electrolyte (pH 7.18) was found to be best for the complete resolution of hydrazine, methylhydrazine, N,N'-dimethylhydrazine, and N,N-dimethylhydrazine. The described method is modestly sensitive (detection limit around  $1 \cdot 10^{-3}$  mol.l<sup>-1</sup>) and proved suitable for rapid identification and quantitative evaluation of the analyzed substances in aqueous solutions.