

On-line концентрирование биогенных аминов методом капиллярного электрофореза с использованием синтезированных ковалентных покрытий на основе ионных жидкостей

Е.А. Колобова^{1,2*}, Л.А. Карцова¹, Е.А. Бессонова¹, А.В. Кравченко¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии, Российская Федерация, 198504, г. Санкт-Петербург, Петродворец, Университетский пр., 26

²Всероссийский Центр Экстренной и Радиационной Медицины им. А.М. Никифорова, Российская Федерация, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Оптиков, 54

*Адрес для переписки: Колобова Екатерина Алексеевна, E-mail: ekatderyabina@mail.ru

Поступила в редакцию 13 февраля 2017 г., после доработки – 15 марта 2017 г.

В работе предложен вариант синтеза ковалентных покрытий внутренних стенок кварцевого капилляра на основе имидазолиевой ионной жидкости (ИЖ), включающий стадию силилирования с последующей функционализацией имидазолом и 1-бромбутаном. Полученные покрытия создавали анодный электроосмотический поток (ЭОП) при pH = 2. Рабочий диапазон pH фонового электролита, при котором синтезированные покрытия не меняют своих характеристик, составляет 2.0-5.5. Выявлены возможности различных вариантов *on-line* концентрирования (стэкинг с большим объемом вводимой пробы и «водной пробкой», свипинг, свипинг в сочетании с электростэкингом) катехоламинов. При стэкинге с большим объемом вводимой пробы факторы концентрирования (SEF) аналитов составили 105-135, а пределы обнаружения снижены до 11-17 нг/мл. В варианте свипинга, мицеллообразующий агент – додецилсульфат натрия, сорбируясь на модифицированных стенках, обеспечивал поверхности отрицательный заряд и выполнял роль сильного катионообменника, что приводило к дополнительным резервам в селективности разделения аналитов. При электростэкинге значения факторов концентрирования биогенных аминов превысили 1000, а пределы обнаружения удалось снизить до 1-2 нг/мл. Проведена апробация установленных закономерностей при анализе образцов мочи.

Ключевые слова: ковалентные покрытия, ионные жидкости, биогенные амины, *on-line* концентрирование.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2017, vol. 21, no. 1, pp. 57-64

DOI: 10.15826/analitika.2017.21.1.006

On-line concentration of biogenic amines by capillary electrophoresis method using the synthesized covalent coating based on the imidazolium ionic liquids

Е.А. Колобова^{1,2*}, Л.А. Карцова¹, Е.А. Бессонова¹, А.В. Кравченко¹

¹Saint-Petersburg State University, Institute of Chemistry, 26 Universitetskii prospect, St. Petersburg, Peterhof 198504, Russian Federation

²The Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, 54 Optikov st., St. Petersburg, 199034, Russian Federation

*Corresponding author: Ekaterina A. Rjlobova, E-mail: ekatderyabina@mail.ru

Submitted 13 February 2017, received in revised form 15 March 2017

Covalent coatings of internal quartz capillary walls based on the ionic liquids were synthesized within this research. The synthesis of the covalent coating included a step of silylation followed by the functionalization with imidazole and 1-bromobutane. The resulting coating created anodic electroosmotic flow (EOF) at pH = 2.

The range of pH at which coatings do not change their properties was 2.0-5.5. The possibilities of different ways of *on-line* concentration (*large volume sample stacking, head-column field-amplified sample stacking, sweeping, sweeping in combination with electrostacking*) of catecholamines were examined. Stacking efficiency factors (SEF) were 105-135 and the detection limits were decreased to 11-17 ng/ml for analytes under the large volume sample stacking. Under the sweeping conditions, sodium dodecyl sulfate (micelle forming agent) was sorbed on the modified walls, provided a negative charging surface and acted as a strong cation exchanger. This fact led to the additional reserves in the separation selectivity of catecholamines. Under the electrostacking, the values of SEF were above 1000 and the detection limits were reduced to 1-2 ng/ml. An approbation of established patterns in the analysis of urine samples was carried out.

Keywords: covalent coating, ionic liquids, biogenic amines, *on-line* concentration.

Введение

В последнее годы всё больший интерес химии-аналитики проявляют к ионным жидкостям (ИЖ) благодаря таким их уникальным свойствам как: низкие температуры плавления и летучесть, негорючесть, высокая химическая и термическая стабильность, способность растворять полярные и неполярные аналиты, высокая электропроводимость и др [1]. Наиболее изученным и широко используемым классом являются ИЖ на основе имидазола. В аналитической химии данные соединения оказались полезной находкой и открыли новые возможности среди методов разделения и концентрирования, в первую очередь в высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и капиллярном электрофорезе (КЭ) [2].

Введение ИЖ в состав подвижной фазы (ВЭЖХ) и фонового электролита (КЭ) предотвращает сорбцию основных аналитов за счет подавления действия силанольных групп путем динамической модификации стационарной фазы в ВЭЖХ [3] и внутренних стенок кварцевого капилляра [4, 5]. Присутствие хромофорного фрагмента в составе молекул ИЖ обеспечивает обнаружение не поглощающих в УФ-области спектра аналитов в условиях косвенного детектирования. Ионные жидкости с большим алкильным радикалом в имидазольном кольце обладают свойствами поверхностно-активных веществ (ПАВ), и при концентрациях в водных растворах выше критической концентрации мицеллообразования (ККМ) образуют псевдостационарную фазу. Для режима капиллярного электрофореза это принципиально, поскольку наличие второй фазы способствует совместному разделению ионогенных и нейтральных аналитов [6]. А введение хиральных ИЖ в элюент или фоновый электролит может способствовать разделению энантиомеров биологически активных соединений [7].

При этом одной из проблем использования ионных жидкостей в качестве добавок в подвижную фазу или буферный электролит является невысокая воспроизводимость параметров миграции, поэтому требуется постоянное обновление динамического покрытия; другая проблема – снижение чувствительности за счет хромофорного фона, обусловленного имидазолиевыми катионами. Поэтому в последнее время в ВЭЖХ отмечена тенден-

ция к созданию иммобилизованных стационарных фаз на основе ИЖ [8].

Однако для КЭ такие публикации весьма малочисленны. Ковалентные покрытия на основе ИЖ применялись при разделении фрагментов ДНК [9], алкилфосфониевых кислот [10] и катионов металлов [11]. В [12] применение ковалентно модифицированных капилляров позволило определить sildenafil и его активный метаболит в плазме крови с использованием масс-спектрометрического детектирования.

Данное исследование посвящено синтезу ковалентных покрытий на основе имидазолиевых ИЖ и выявлению их аналитических возможностей при электрофоретическом определении основных аналитов – биогенных аминов.

Экспериментальная часть

Реагенты

Деионизованная вода, гидроксид натрия («ч.д.а.», «Химреактив»), соляная кислота («х.ч.») («Реахим»); дигидрофосфат натрия двухводный («х.ч.») («Реахим»); борная кислота («х.ч.») («Реахим»); (-)-адреналин (А) («Sigma»); L-(-)-норадреналин (НА) («Aldrich»); DL-норметанефрин (NMN) гидрохлорид («Sigma»); дофамин (DA) гидрохлорид («Sigma»). Дихлорметан (>99.7 %, «J.T. Baker»), ацетон (>99.8 %, «Merck»), диметилформамид (ДМФА) (>99.9 %, «J.T. Baker»), 1-бромбутан (99%, «ReagentPlus»), имидазол (> 99%, «Sigma- Aldrich»), (3-глицидоксипропил)триметоксисилан («Sigma»), 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил (DPPH) («Sigma»), этилендиаминтетраацетат диводороднатрия дигидрат (Na₂EDTA) («Sigma»), карбонат натрия («ч.д.а.», «Химреактив»), ледяная уксусная кислота («Sigma-Aldrich»), оксид алюминия (Al₂O₃) (> 98 %, «Sigma-Aldrich»).

Оборудование

Электрофоретическое определение проводили с использованием системы высокоэффективного капиллярного электрофореза «Капель-105М» фирмы «Люмэкс» (Россия) со спектрофотометрическим детектором в кварцевых капиллярах с внешним полиимидным покрытием. Общая длина капилляра – 60 см, эффективная длина капилляра – 50 см; внешний диаметр – 360 мкм, внутренний диаметр – 50 мкм. Термостат фирмы «LOIP», ульт-

тразвуковая баня фирмы «Elmasonic». Обработку результатов проводили с помощью программного обеспечения «Эльфоран». Навески для приготовления модельных растворов солей брали на весах фирмы «Sartorius» ($d = 0.001$ мг (0.5 г)).

Условия электрофоретического определения

Рабочее напряжение ± 20 кВ. Спектрофотометрическое детектирование осуществляли на длине волны $\lambda = 220$ нм. Ввод пробы – гидродинамический (3 или 5 кПа) или электрокинетический (+15 кВ). Термостатирование капилляра проводили при $+20^\circ\text{C}$. В качестве маркера электроосмотического потока (ЭОП) использовали 5 %-й раствор ДМФА в воде. Перед началом работы и между опытами капилляр промывали дистиллированной водой 5 минут и фоновым электролитом в течение 5 минут. По окончании работы проводилась промывка капилляра дистиллированной водой в течение 5 минут.

Синтез ковалентных покрытий на основе ионных жидкостей

Подготовка кварцевого капилляра к работе. Кварцевый капилляр промывали и заполняли 2М раствором NaOH. Заполненный капилляр герметизировали и нагревали в термостате при 90°C в течение 2 ч. После охлаждения до комнатной температуры капилляр промывали 0.1 М раствором HCl в течение 10 минут, деионизированной водой 15 минут и ацетоном 15 минут, сушили в термостате при 120°C в течение 1 ч.

Силанизация кварцевого капилляра. Протравленный капилляр промывали раствором, дегазированным в течение 15 минут в ультразвуковой ванне и содержащим 30 % (об.) (3-глицидоксипропил)триметоксисилана и 0.1 % мас. 2,2-дифенил-1-пиррилгидразила в N,N-диметилформамиде (ДМФА). Заполненный капилляр герметизировали и нагревали в термостате при 120°C в течение 6 ч. Затем капилляр последовательно промывали ДМФА, ацетоном и высушивали в токе азота (рис. 1).

Функционализация силанизированного капилляра. Функционализация силанизированного капилляра осуществлялась в два этапа (рис. 1).

Сначала силанизированный капилляр заполняли дегазированным в ультразвуковой бане (10 минут) раствором (25 мг/мл) имидазола в ДМФА, герметизировали концы и помещали на 4 ч в термостат при 90°C , затем избыток имидазола удаляли из капилляра путем промывки ДМФА в течение 10 минут. На второй стадии модифицированный капилляр заполняли 1-бромбутаном, герметизировали концы и помещали в термостат на 10 часов при 80°C . Избыток бутилбромиды удаляли путем промывки ДМФА в течение 30 минут.

Перед началом работы капилляр промывали в течение 20 минут дистиллированной водой. Контроль степени ковалентной модификации осуществлялся путем измерения скорости ЭОПа.

Пробоподготовка мочи. Процедура пробоподготовки мочи основана на ранее описанной методике сорбционного концентрирования с применением оксида алюминия [13]. К 15 мл образца мочи добавляли 1.2 мл 50 мМ раствора Na_2EDTA , затем 1 М раствором Na_2CO_3 доводили pH образца до 8.5 и быстро вносили 25 мг прокаленного оксида алюминия, перемешивали 2 минуты и отфильтровывали с использованием системы PrePPu с мембранным насосом. Далее сорбент промывали дистиллированной водой (2×3 мл) и элюировали аналиты 0.5 мл 1М раствором уксусной кислоты.

Обсуждение результатов

Ранее нами было показано, что ИЖ 1-додецил-3-метилимидазолий хлорид $\text{C}_{12}\text{MImCl}$ и 1-гексадецил-3-метилимидазолий хлорид $\text{C}_{16}\text{MImCl}$ выступают в качестве динамических модификаторов стенок кварцевого капилляра при определении основных аналитов: аминокислот [14] и катехоламинов [15]. Обнаружено увеличение эффективности в условиях капиллярного зонного электрофореза (КЗЭ), когда концентрации ИЖ была меньше критической концентрации мицеллообразования, и невысокая воспроизводимость параметров миграции.

Альтернативой динамическим покрытиям могут стать ковалентные на основе ИЖ. Их синтез осуществлялся в результате гетерогенного процесса: после травления капилляра проводили ре-

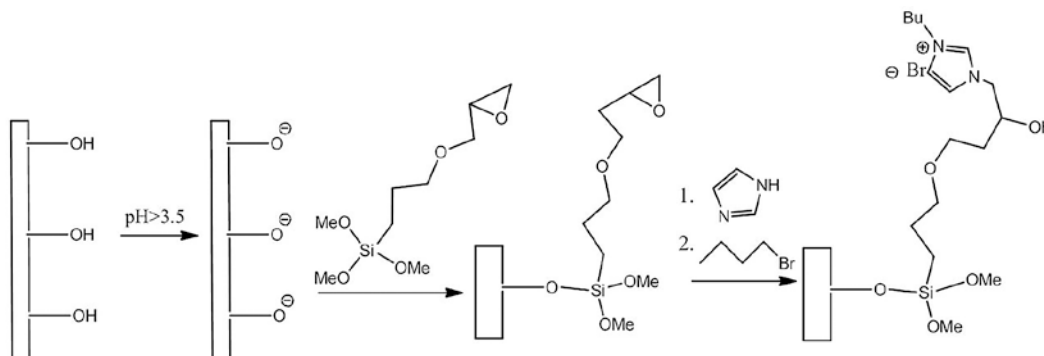


Рис. 1. Схема создания ковалентных покрытий на основе ионной жидкости

Fig. 1. The scheme of covalent coating based on the imidazolium synthesis

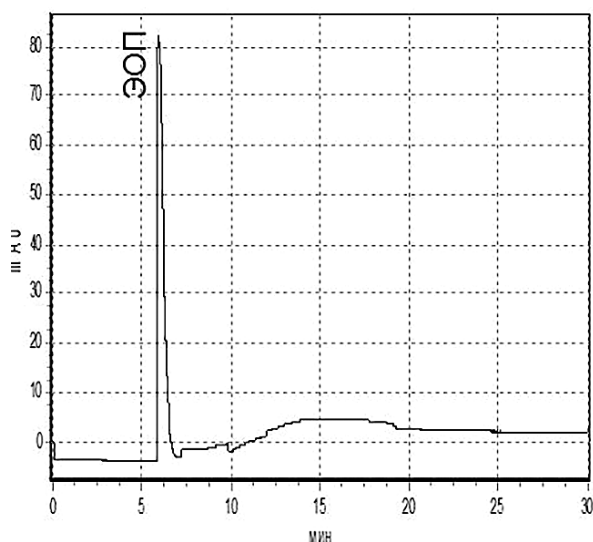


Рис. 2. Электрофореграмма маркера электроосмотического потока. Условия: Капель 105 М, фоновый электролит: 10 мМ NaH_2PO_4 , pH = 2.0 (доведенный 0.1 М HCl). Напряжение -20 кВ, детектирование - 220 нм. Маркер ЭОПа - 5 %-й (объемн.) раствор ДМФА в воде

Fig. 2. The electropherogram of electroosmotic flow (EOF) marker. Conditions: Capel-105M, background electrolyte (BGE): 10 mM NaH_2PO_4 , pH = 2.0 (adjusted by 0.1 M HCl). Voltage -20 kV, detection 220 nm. Marker of EOF - 5% (v/v) dimethylformamide (DMFA) in distilled water

акцию силанизации с последующей постфункционализацией имидазолом и 1-бромбутаном (рис. 1).

Контроль степени функционализации покрытия проводили по значению скорости ЭОП в 10 мМ фосфатном фоновом электролите при pH = 2.0 (рис. 2). Синтезированные покрытия создают стабильный анодный ЭОП ($RSD = 2.3\%$, $n = 10$, $p = 0.95$).

Наличие обращенного ЭОПа указывает на ковалентную модификацию внутренних стенок кварцевого капилляра, что подтверждается и снимками, полученными на сканирующем электронном микроскопе (рис. 3).

Исследована зависимость скорости и направления ЭОПа от pH фонового электролита (рис. 4). Установлено, что при увеличении pH рабочего буфера происходит ослабление ЭОПа, а при pH = 9.3 наблюдается катодный ЭОП, что указывает на наличие остаточных силанольных групп на поверхности кварцевого капилляра. После работы в щелочной среде и при возвращении к pH = 2.0 восстанавливался анодный ЭОП. Таким образом, синтезированные покрытия оказались стабильными в широком диапазоне pH (2.0-9.3)

Для оценки аналитических возможностей ковалентных покрытий на основе ИЖ в качестве модельных систем выбраны биогенные амины - адреналин (A), норадреналин (NA), норметанефрин (NMN), дофамин (DA).

В кислой среде эти аналиты заряжены положительно и в условиях КЗЭ мигрируют в направле-

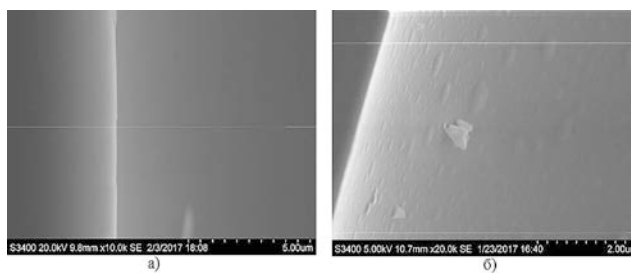


Рис. 3. Фотография внутренней стенки модифицированного ионной жидкостью кварцевого капилляра, полученная методом сканирующей электронной микроскопии. Поверхность кварцевого капилляра - а; поверхность кварцевого капилляра с иммобилизованной ионной жидкостью - б. Прибор: HITACHI S-3400N, условия съемки: изображение во вторичных электронах (SE), ускоряющее напряжение 10 кВ (а) и 20 кВ (б), масштаб: 5 мкм (а) и 2 мкм (б), экспозиция 320 с на изображение

Fig. 3. The photography of internal quartz capillary wall from scanning electron microscopy method: a) fused-silica capillary; б) N-butylimidazolium modified capillary. HITACHI S-3400N, conditions: secondary electron image (SE), accelerating voltage 10 kV (a) and 20 kV (б), scale: 5 μm (a) and 2 μm (б), exposure 320 s per image

нии катода за счет собственных электрофоретических подвижностей. Разделение характеризуется невысокой селективностью разделения и низкой эффективностью (40-70 тысяч теоретических тарелок - т.т.), что связано с взаимодействиями между компонентами пробы и силанольными группами внутренних стенок кварцевого капилляра (рис. 5, а).

При разделении биогенных аминов с использованием капилляров с ковалентно пришитой ионной жидкостью эффективность возрастала в 2-5 раз

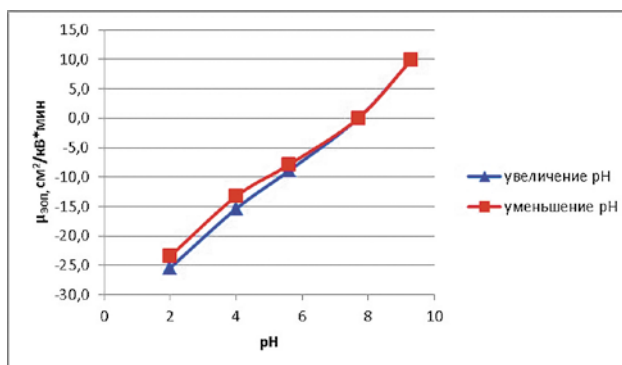


Рис. 4. Зависимость скорости ЭОПа от pH фонового электролита. Условия: Капель 105 М, рабочий буфер: 10 мМ NaH_2PO_4 (доведенный до требуемого pH 0.1 М HCl) или 10 мМ H_3BO_3 (доведенный до требуемого pH 0.1 М NaOH). Напряжение ± 20 кВ, детектирование - 220 нм. Маркер ЭОПа - 5 %-й (объемн.) раствор ДМФА в воде

Fig. 4. The dependency of EOF on BGE pH. Conditions: Capel-105M, background electrolyte (BGE): 10 mM NaH_2PO_4 (adjusted by 0.1 M HCl) or 10 mM H_3BO_3 (adjusted by 0.1 M NaOH). Voltage ± 20 kV, detection 220 nm. Marker of EOF - 5% (v/v) DMFA in distilled water

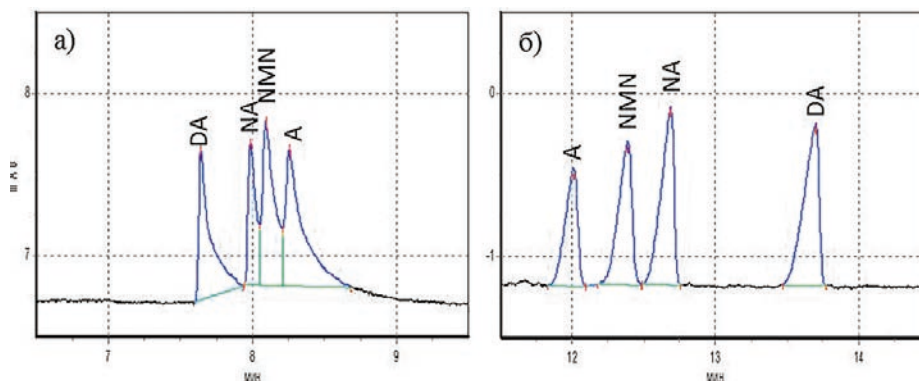


Рис. 5. Электрофореграммы модельной смеси катехоламинов. Условия: Капель 105 М, фоновый электролит: 10 мМ NaH₂PO₄, pH = 2.0 (доведенный 0.1 М HCl). Детектирование – 220 нм. а – кварцевый капилляр, напряжение – 20 кВ. б – ковалентно модифицированный ионной жидкостью кварцевый капилляр, напряжение -20 кВ. Аналиты: NA – норадреналин, А – адреналин, NMN – норметанефрин, DA – дофамин

Fig. 5. The electropherograms of catecholamines model mixture. Conditions: Capel-105M, background electrolyte (BGE): 10 mM NaH₂PO₄ pH = 2.0 (adjusted by 0.1 M HCl). Detection 220 nm. a) fused silica capillary, voltage +20 kV, б) – covalent modified capillary by ionic liquid, voltage -20 kV. Compounds: NA – norephedrine, A - ephedrine, NMN – normetamephrine, DA – dopamine

и достигала значений до 300 тыс т.т. (рис. 5, б). В этих условиях аналиты и ЭОП мигрируют в противоположных направлениях, что благоприятствует концентрированию. Однако полученные значения пределов обнаружения (320-520 нг/мл) оказались недостаточными для определения биогенных аминов в биологических жидкостях. Для снижения пределов обнаружения изучены возможности различных вариантов *on-line* концентрирования (стэкинг с большим объемом вводимой пробы, сочетание стэкинга с водной пробкой и большим вводом пробы).

Факторы концентрирования (SEF_h) определяли по формуле

$$SEF_h = \frac{h_1}{h_2} * r, \text{ где}$$

h_1 – высота пика соответствующего аналита при концентрировании; h_2 – высота пика при стандартных условиях (2 с, 3 кПа – стэкинг с усилением

поля: 2 с, 10 кВ – электростэкинг); r – коэффициент разбавления.

Для выбора требуемых условий варьировали время ввода анализируемой пробы (2-100 с), время ввода «водной пробки» (0-30 с) и давление ввода пробы (3-5 кПа). Факторы концентрирования (SEF_h) и пределы обнаружения (ПО) составили 100-135 и 320-520 нг/мл соответственно (табл. 1).

Интересные результаты получены и при концентрировании аналитов в условиях свипинга. В качестве мицеллообразующего агента применяли додецилсульфат натрия (ДДСН). Молекулы детергента за счет гидрофобных взаимодействий модифицируют стенки капилляра, образуя двойной слой (рис. 6, а). В результате поверхность приобретает отрицательный заряд и создается сильный катодный ЭОП ($t_{\text{зон}} = 3.9-4.0$ минуты). При этом аналиты мигрируют после ЭОПа (рис. 6, б), что указывает на их взаимодействие с мицеллами додецилсульфата натрия (ДДСН; ККМ – 8.2 мМ).

Таблица 1

Результаты *on-line* концентрирования катехоламинов на синтезированных N-алкилимидазолиевых покрытиях. Фоновый электролит: 10 мМ NaH₂PO₄, pH = 2.0. Матрица пробы – вода

Table 1

The results of *on-line* concentration of catecholamines on the synthesized N-alkylimidazolium coating. Background electrolyte: 10 mM NaH₂PO₄, pH = 2.0. Solution of the sample – water

Тип концентрирования	Условия ввода пробы	Характеристики концентрирования	Аналиты			
			A	NMN	NA	DA
Без концентрирования	Гидродинамический ввод пробы: 3 кПа, 2 с	SEF _h	4	5	4	4
		ПО, нг/мл	520	350	370	320
Стэкинг с большим объемом вводимой пробы	Гидродинамический ввод пробы: 5 кПа, 30 с	SEF _h	125	120	135	105
		ПО, нг/мл	17	14	11	12
Стэкинг с большим объемом вводимой пробы с «водной пробкой»	Гидродинамический ввод воды: 3 кПа, 5 с Гидродинамический ввод пробы 5 кПа, 30 с	SEF _h	125	120	135	100
		ПО, нг/мл	17	14	11	12

Таблица 2

Результаты *on-line* концентрирования катехоламинов на синтезированных N-алкилимидазолиевых покрытиях в условиях свипинга. Фоновый электролит: 10 мМ NaH₂PO₄, 50 мМ ДДСН, pH = 2.0. Матрица пробы – вода

Table 2

The results of *on-line* concentration of catecholamines on the synthesized N-alkylimidazolium coating under sweeping condition. Background electrolyte: 10 mM NaH₂PO₄, 50 mM SDS, pH = 2.0. Solution of the sample – water

Тип концентрирования	Условия ввода пробы	Характеристики концентрирования	Аналиты			
			A	NMN	NA	DA
Свипинг с большим объемом вводимой пробы	Гидродинамический ввод пробы: 3 кПа, 2 с	SEF _h	130	160	150	140
		ПО, нг/мл	17	11	10	9
Свипинг + электростэкинг	Гидродинамический ввод пробы: 5 кПа, 30 с	SEF _h	1500	930	1460	1030
		ПО, нг/мл	1	2	1	2

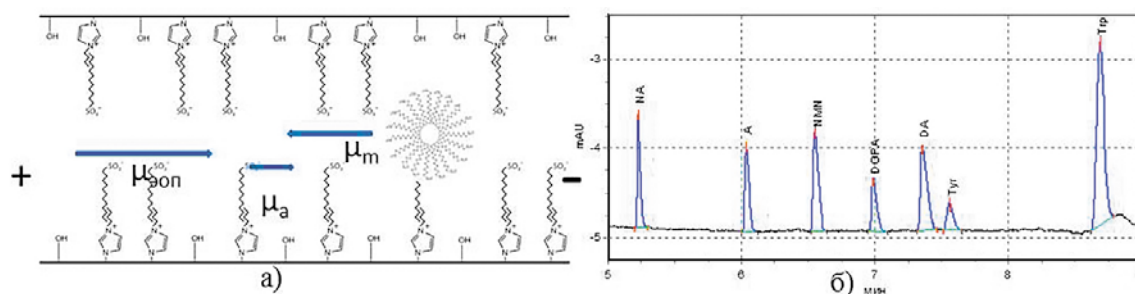


Рис. 6. Схема механизма разделения биогенных аминов в капиллярах с ковалентно пришитой ИЖ, в условиях МЭКХ – а. Электрофореграмма модельной смеси аналитов – б. Условия: Капель 105 М, фоновый электролит: 10 мМ NaH₂PO₄, pH = 2.0 (доведенный 0.1 М HCl), 25 мМ ДДСН. Напряжение 20 кВ, ввод пробы: 3 кПа 5 с, детектирование – 220 нм. Аналиты: NA – нордреналин, А – адреналин, NMN – норметанефрин, DA – дофамин, Tyr – тирозин, Trp – триптофан, DOPA – 3,4-дигидроксифенилаланин. μ_{eof} – электрофоретическая подвижность ЭОПа, μ_а – электрофоретическая подвижность аналитов, μ_м – электрофоретическая подвижность мицелл ДДСН

Fig. 6. The scheme of biogenic amines separation in capillaries immobilized by the ionic liquids under MEKC (a). The electropherogram of analytes model mixture (b). Condition: Capel-105M, background electrolyte (BGE): 10 mM NaH₂PO₄, pH = 2.0 (adjusted by 0.1 M HCl), 25 mM SDS. Voltage +20 kV, Detection 220 nm. Injection: 15 kPa·s. Compounds: NA – norephedrine, A - ephedrine, NMN – normetamephrine, DA – dopamine, Tyr – tyrosine, DOPA – 3,4 – dihydroxyphenylalanine, Trp – tryptophan. μ_{eof} – EOF electrophoretic mobilities, μ_а – electrophoretic mobilities of analytes, μ_м - electrophoretic mobilities of SDS micelles

В данной системе могут реализоваться не только гидрофобные взаимодействия аналитов с полостью мицеллы, но и электростатические: молекулы ДДСН, адсорбированные на поверхности ковалентно модифицированного кварцевого капилляра, могут выступать и в качестве сильного катионообменника, что создает дополнительный резерв в увеличении селективности разделения.

Сонаправленное движение аналитов и ЭОПа позволяет реализовать *on-line* концентрирование биогенных аминов в условиях электростэкинга. В таком варианте значения факторов концентрирования превысили 1000, а пределы обнаружения удалось снизить до 1-2 нг/мл.

В оптимизированных условиях определены биогенные амины в образцах мочи (рис. 7): C(A) = 10 ± 2 нг/мл, C(NA) = 45 ± 5 нг/мл, C(DA) = 212 ± 17 нг/мл.

Заключение

Предложен способ ковалентной модификации стенок кварцевого капилляра ионной жидко-

стью на основе имидазола. Впервые выявлены возможности *on-line* концентрирования на иммобилизованных ИЖ капиллярах. Показано, что применение синтезированных покрытий в условиях свипинга в сочетании с электростэкингом позволяет достичь для катехоламинов факторов концентрирования свыше 1000, а достигнутые пределы обнаружения в условиях свипинга (20-25 нг/мл) позволяют определять указанные аналиты в образцах мочи после предварительного концентрирования на оксиде алюминия.

Благодарности

Работа выполнена на оборудовании ресурсного образовательного центра «Хроматографические методы исследования» Санкт-Петербургского государственного университета. Снимки поверхности кварцевого капилляра были получены методом сканирующей электронной микроскопии на базе ресурсных центров «Геомодель» и «Нанотех-

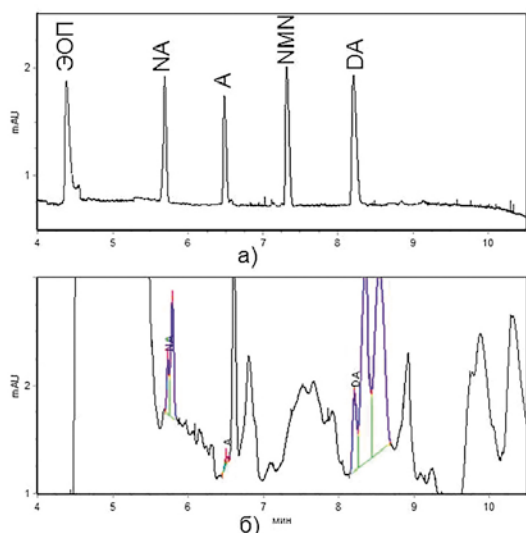


Рис. 7. Электрофореграмма стандартной смеси биогенных аминов – а. электрофореграмма образца мочи, прошедшего ТФЭ – б. Условия: Капель 105 М, фоновый электролит: 10 мМ NaH_2PO_4 , pH = 2.0 (доведенный 0.1 М HCl), 50 мМ ДДСН. Напряжение 20 кВ, ввод пробы - 5 кПа 50 с, детектирование – 220 нм. Аналиты: NA – норадреналин, А – адреналин, NMN – норметанефрин, DA – дофамин

Fig. 7. а) The electropherogram of biogenic amines standard mixture. б) The electropherogram of urine sample. Conditions: Capel-105M, background electrolyte (BGE): 10 mM NaH_2PO_4 pH = 2.0 (adjusted by 0.1 M HCl), 25 mM SDS. Voltage +20 kV, Detection 220 nm. Injection: 250 kPa·s. Compounds: NA – norephedrine, A – ephedrine, NMN – normetamphetamine, DA – dopamine.

нологии» Санкт-Петербургского государственного университета.

Acknowledgements

The research was performed on the equipment of «Chromatographic methods of investigation» Chemistry Educational Centre in Saint-Petersburg State University. The pictures of quartz capillary surface were obtained by scanning electron microscopy method in Centre for Geo-Environmental Research and Modelling (GEOMODEL) and Interdisciplinary Resource Centre for Nanotechnology in Saint-Petersburg State University.

Литература

1. Ionic Liquids in Analytical Chemistry: Fundamentals, Advances, and Perspectives / T. Ho [et al.] // *Anal. Chem.* 2014. V. 86, № 1. P. 262-285.
2. Kartsova L.A., Bessonova E.A., Kolobova E.A. Ionic Liquids as Modifiers of Chromatographic and Electrophoretic Systems // *J. Anal. Chem.* 2016. V. 71, № 2. P. 147-158.
3. Sun P., Armstrong D.W. Ionic liquids in analytical chemistry // *Analytica Chimica Acta.* 2010. V. 661. P. 1-16.
4. On the use of ionic liquids as mobile phase additives in high-performance liquid chromatography. A review / M.C.

García-Alvarez-Coque [et al.] // *Analytica Chimica Acta.* 2015. V. 883. P. 1-21.

5. Recent advances of ionic liquids and polymeric ionic liquids in capillary electrophoresis and capillary electrochromatography / Sh.Tanga [et al.] // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1357. P. 147-157.
6. Borissova M., Palk Kl., Koel M. Micellar electrophoresis using ionic liquids // *Journal of Chromatography A.* 2008. V. 1183. P. 192-195.
7. Kapnissi-Christodoulou C.P., Stavrou I.J., Mavroudi M.C. Chiral ionic liquids in chromatographic and electrophoretic separations // *J. Chromatogr. A.* 2014. V. 1363. P. 2-10.
8. Shi X., Qiao L., Xu G. Recent development of ionic liquid stationary phases for liquid chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2015. V. 1420. P. 1-15.
9. Qin W., Li S. F.Y. Electrophoresis of DNA in ionic liquid coated capillary // *Analyst.* 2003. V. 128 P. 37-41.
10. Capillary zone electrophoresis on chemically bonded imidazolium based salts / M. Borissova [et al.] // *J. Chromatogr. A.* 2007 V. 1160. P. 320-325.
11. Qin W., Li S.F.Y. Determination of ammonium and metal ions by capillary electrophoresis–potential gradient detection using ionic liquid as background electrolyte and covalent coating reagent // *J. Chromatogr. A.* 2008. V. 1048. P. 253-256.
12. Qin W., Wei H., Li S.F.Y. An ionic liquid coating for determination of sildenafil and UK-103,320 in human serum by capillary zone electrophoresis-ion trap mass spectrometry // *Electrophoresis.* 2002. V. 23. P. 4110-4116.
13. Определение адреналина, норадреналина, дофамин методом капиллярного электрофореза / Л.А. Карцова [и др.] // *Журнал прикл. химии.* 2004. т. 77. С. 1164-1169.
14. Kolobova E.A., Kartsova L.A., Bessonova E.A. Application of ionic liquids based on imidazole to the electrophoretic determination of amino acids in urine // *J. Anal. Chem.* 2015. V. 70. № 11. P. 1354-1359.
15. Колобова Е. А., Карцова Л. А., Бессонова Е. А. Ионные жидкости на основе имидазола в качестве модификаторов электрофоретических систем при определении биогенных аминов и стероидных гормонов // *Вестник СПбГУ. Сер. 4.* 2015. Т. 2. № 60. С. 185-190.

References

1. Ho T. D., Zhang Ch., Hantao L.W., Anderson J.L. Ionic Liquids in Analytical Chemistry: Fundamentals, Advances, and Perspectives. *Anal. Chem.* 2014, vol. 86, no 8, pp. 262-285. DOI: 10.1021/ac4035554.
2. Kartsova L.A., Bessonova E.A., Kolobova E.A. Ionic Liquids as Modifiers of Chromatographic and Electrophoretic Systems. *J. Anal. Chem.* 2016, vol. 71, no. 2, pp. 147-158. DOI: 10.1134/S1061934816020064.
3. Sun P., Armstrong D.W. Ionic liquids in analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*, 2010, vol. 661, pp. 1-16. DOI: 10.1016/j.aca.2009.12.007.
4. García-Alvarez-Coque M.C., Ruiz-Angel M.J., Berthod A., Carda-Broch S. On the use of ionic liquids as mobile phase additives in high-performance liquid chromatography. A review. *Analytica Chimica Acta*, 2015, vol. 883, pp. 1-21. DOI: 10.1016/j.aca.2015.03.042.
5. Tanga Sh., Liu Sh, Guo Y., Liu X., Jiang Sh. Recent advances of ionic liquids and polymeric ionic liquids in capillary electrophoresis and capillary electrochromatography. *Journal Chromatography A*, 2014, vol. 1357, pp. 147-157. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.04.037.

6. Borissova M., Palk Kl., Koel M. Micellar electrophoresis using ionic liquids. *Journal Chromatography A*, 2008, vol. 1183, pp. 192-195. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.12.077.
7. Kapnissi-Christodoulou C.P., Stavrou I.J., Mavroudi M.C. Chiral ionic liquids in chromatographic and electrophoretic separations. *Journal Chromatography A*, 2014, vol. 1363, pp. 2-10. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.05.059.
8. Shi X., Qiao L., Xu G. Recent development of ionic liquid stationary phases for liquid chromatography. *Journal Chromatography A*, 2015, vol. 1420, pp. 1-15. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.09.090.
9. Qin W., Li S.F.Y. Electrophoresis of DNA in ionic liquid coated capillary. *Analyst*, 2003, vol. 128, pp. 37-41. DOI: 10.1039/B208724C.
10. Borissova M., Vaher M., Koel M., Kaljurand M. Capillary zone electrophoresis on chemically bonded imidazolium based salts. *Journal Chromatography A*, 2007, vol. 1160, pp. 320-325. DOI:10.1016/j.chroma.2007.04.032.
11. Qin W., Li S.F.Y. Determination of ammonium and metal ions by capillary electrophoresis—potential gradient detection using ionic liquid as background electrolyte and covalent coating reagent. *Journal Chromatography A*, 2004, vol. 1048, pp. 253-256. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.07.048
12. Qin W., Wei H., Li S.F.Y. An ionic liquid coating for determination of sildenafil and UK-103,320 in human serum by capillary zone electrophoresis-ion trap mass spectrometry. *Electrophoresis*, 2002, vol. 23, pp. 4110-4116. DOI: 10.1002/elps.200290028.
13. Kartsova L.A., Bessonova E.A., Sidorova A.A., Tver'ianovich I.A., Kazakov V.A., Velikanova L.I. [Opredelenie adrenalina, noradrenalina, dofamina metodom kapilliarnogo elektroforeza]. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 2004, vol. 77, pp. 1164-1169. DOI: 10.1023/B:RJAC.0000044165.62665.85 (in Russian).
14. Kolobova E.A., Kartsova L.A., Bessonova E.A. Application of ionic liquids based on imidazole to the electrophoretic determination of amino acids in urine // *J. Anal. Chem.*, 2015, vol. 70, no. 11, pp. 1354-1359. DOI: 10.1134/S1061934815110076.
15. Kolobova E. A., Kartsova L.A., Bessonova E.A. [Ionic liquids based on imidazolium as a electrophoretic system modifiers at determination of biogenic amines and steroid hormones]. *Vestnik SPSU, seria 4*, 2015, vol. 2, no. 60, pp. 185-190 (in Russian).