

## Wprowadzenie

Ciecze jonowe (ang. Ionic Liquids, ILs) w ciągu ostatnich dwóch dekad coraz częściej stają się dobrą alternatywą dla tradycyjnych rozpuszczalników organicznych, ponieważ charakteryzują się wysoką stabilnością chemiczną i fizyczną, niską lotnością oraz szerokim zakresem zastosowań. Dane literaturowe pokazują, że imidazolowe ciecze jonowe są stosowane do zapobiegania sorpcji analitów na kwarcowych ścianach kapilary. Obecnie interesującym trendem w elektroforezie kapilarnej jest rola dynamicznego pokrycia ścian kapilary, co zwiększa stabilność powierzchni ściany kapilary i wpływa na powtarzalność wyników [1]. Katecholaminy oraz ich nieaktywne metabolity, którym ulegają za pomocą enzymów w organizmie stanowią istotny parametr w diagnostyce funkcji układu nerwowego, immunologicznego i endokrynologicznego w celu oceny zaburzeń i monitorowania skuteczności leczenia. Służą, także jako biomarkery w przypadku diagnostyki guzów neuroendokrynnych i guzów chromochłonnych. Ze względu na fakt, iż aminy biogenne (ang. Biogenic amines, BAs) są zaangażowane w najpowszechniejsze patologie występujące u ludzi, określenie ich poziomu w matrycy biologicznej jest ważne i pomocne w diagnostyce złożonych i różnorodnych typów nowotworu [2].

Celem badań była ocena użytku ILs jako dodatku do elektrolitu podstawowego (ang. Background electrolyte, BGE) na skuteczność separacji badanych BAs za pomocą micelarniej techniki chromatografii elektrokinetycznej (ang. Micellar electrokinetic chromatography, MEKC).

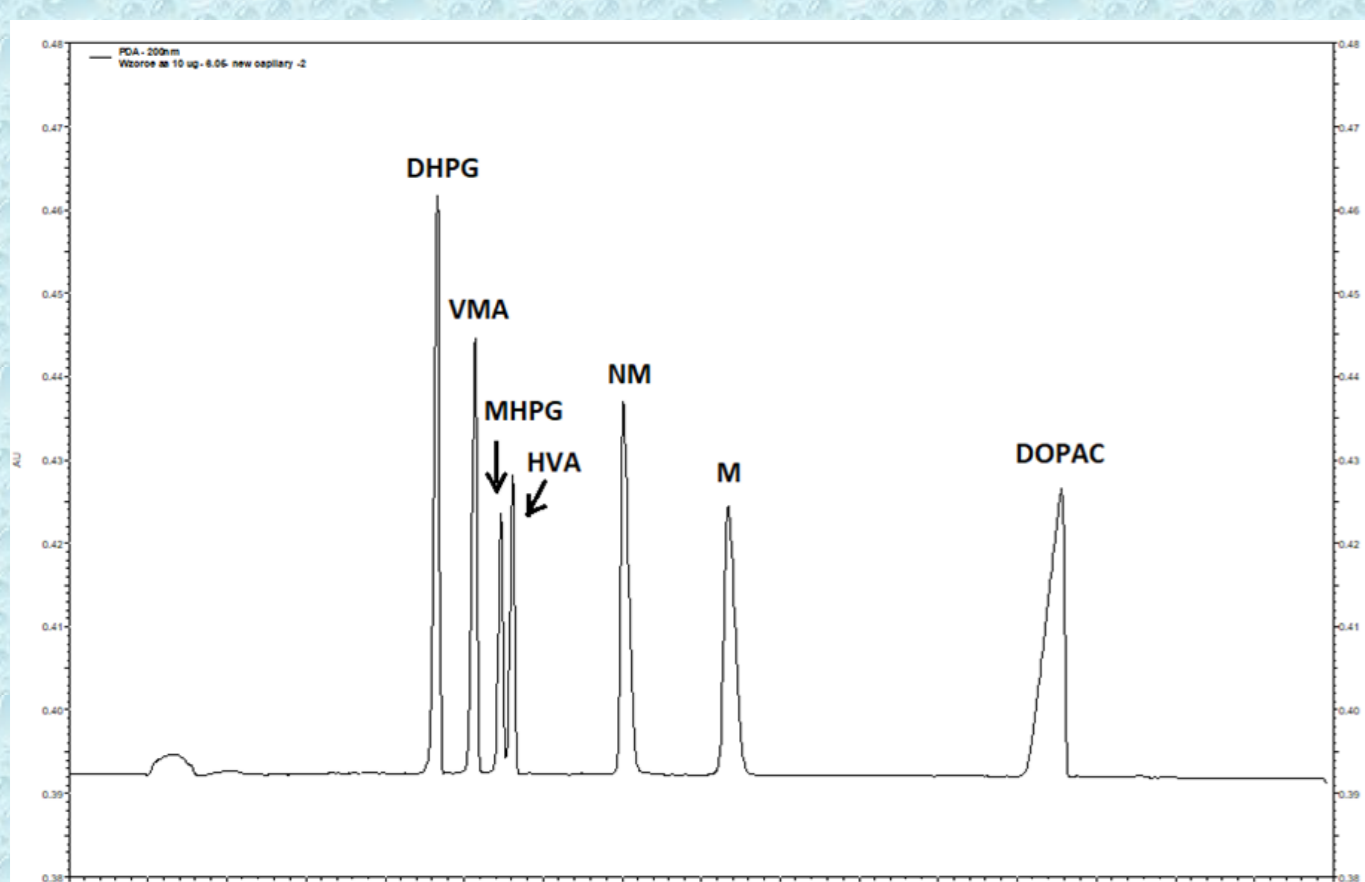
## Cel

Celem badań było określenie efektywności różnych cieczy jonowych jako dodatków do buforu separacyjnego na wydajność rozdzielania wybranych amin biogennych takich jak kwas homowanilinowy (HVA), kwas wanilinogalowy (VMA), dihydroksyfenyloglikol (DHPG), glikol 3-metoksy-4-hydroksyfenyloglikol (MHPG), metanefryna (M), normetanefryna (NM), kwas dihydroksyfenylooctowy (DOPAC). Oceniono wpływ kilku cieczy, których kation stanowił pierścień imidazolowy podstawiony w pozycji 1 różnymi podstawnikami alkiłowymi oraz z różnymi anionami budującymi daną ciecz. Efektywność każdej cieczy zbadano w czterech zakresach stężeń dodanych do buforu separacyjnego podczas analizy siedmiu amin biogennych w stałych warunkach analitycznych techniką MEKC.

## Warunki analizy

Skład buforu separacyjnego został opracowany wstępnie w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej podczas opracowywania metody jednoczesnej analizy wspomnianych amin biogennych, który stanowił wyjściowy elektrolit do dalszych eksperymentów związanych z oceną wpływu cieczy jonowych na wydajność separacji. W tym celu, bufor separacyjny wzbogacono dodatkami odpowiedniej ilości danej cieczy, aby otrzymać jej stężenie w BGE na poziomie 1mM, 5mM, 10mM, 15mM. Ciecze jonowe, których wpływ na analizę elektroforetyczną amin został zbadany przedstawiono w tabeli 1. Zaś parametry prowadzonych analiz zawiera poniższe zestawienie.

Parametr	Wartość parametru
Długość kapilary	50,2 cm
Średnica kapilary	75 μm
Wielkość napięcia	25kV
Czas nastrzyku	15s
Czas analizy	11 min
Analityczna długość fali	200 nm
Bufor separacyjny	5mM boraks 50mM SDS 150mM kwas borny 15 % (v/v) metanol



Rysunek 1. Elektroferogram badanych wzorców o stężeniu 10 μg/mL na buforze separacyjnym bez dodatku cieczy jonowych.

Tabela 1. Ciecze jonowe wykorzystane w badaniach

Lp.	Nazwa cieczy jonowej	Symbol
1	1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate	[BMIM+BF <sub>4</sub> -]
2	1-ethyl-3-methylimidazolium bis(trifluoromethylsulfonyl)imide	[EMIM+NTf <sub>2</sub> -]
3	1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate	[BMIM+PF <sub>6</sub> -]
4	1-ethyl-3-methylimidazolium chloride	[EMIM+Cl-]
5	1-butyl-2,3-dimethylimidazolium tetrafluoroborate	[BDMIM+BF <sub>4</sub> -]
6	1-hexyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate	[HMIM+PF <sub>6</sub> -]
7	1-ethyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate	[EMIM+PF <sub>6</sub> -]
8	1-hexyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate	[HMIM+BF <sub>4</sub> -]
9	1-butyl-3-methylimidazolium metylsulfate	[BMIM+MeSO <sub>4</sub> -]
10	1-hexyl-3-methylimidazolium chloride	[HMIM+Cl-]
11	1-allyl-3-methylimidazolium chloride	[AMIM+Cl-]

## Wnioski

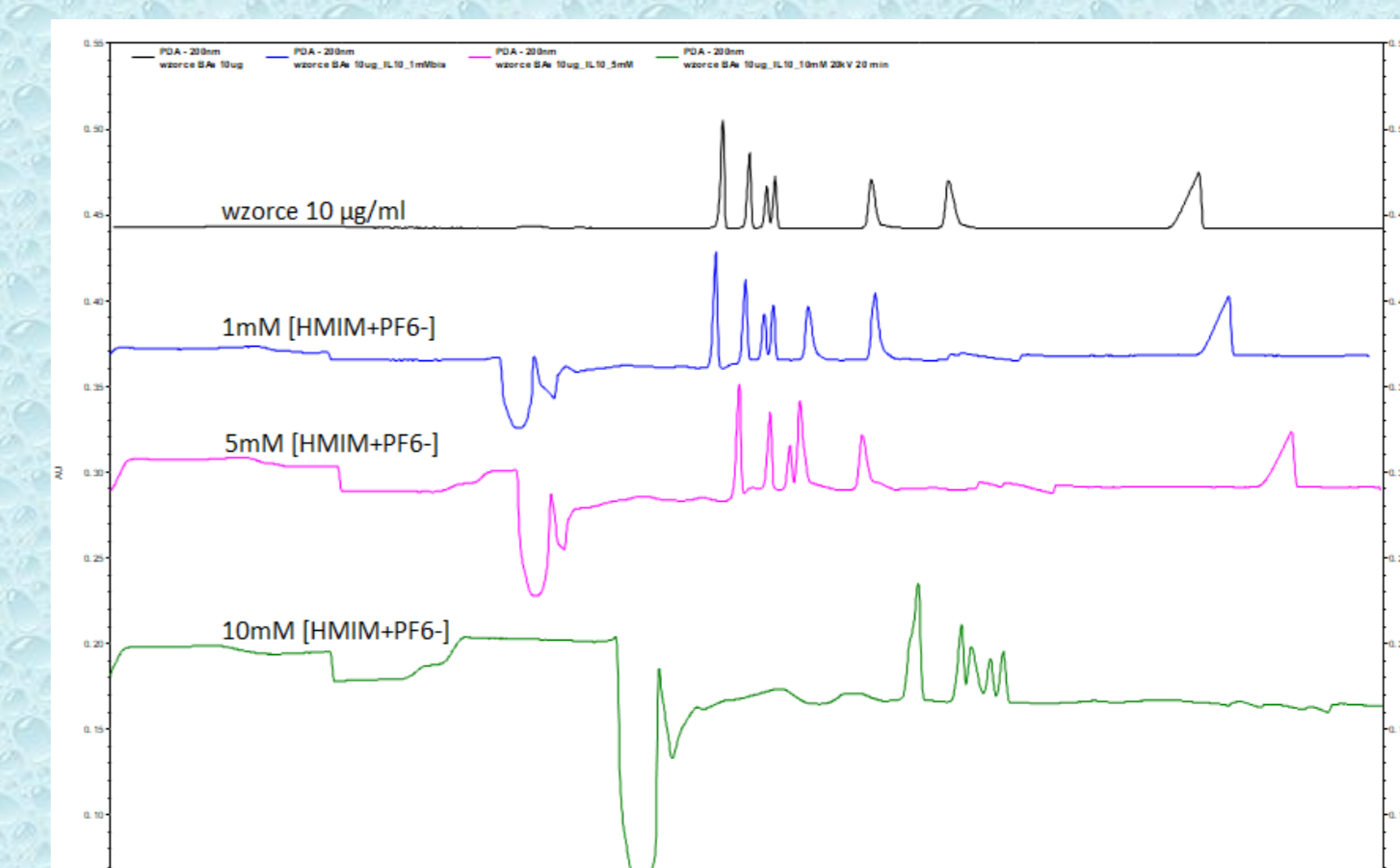
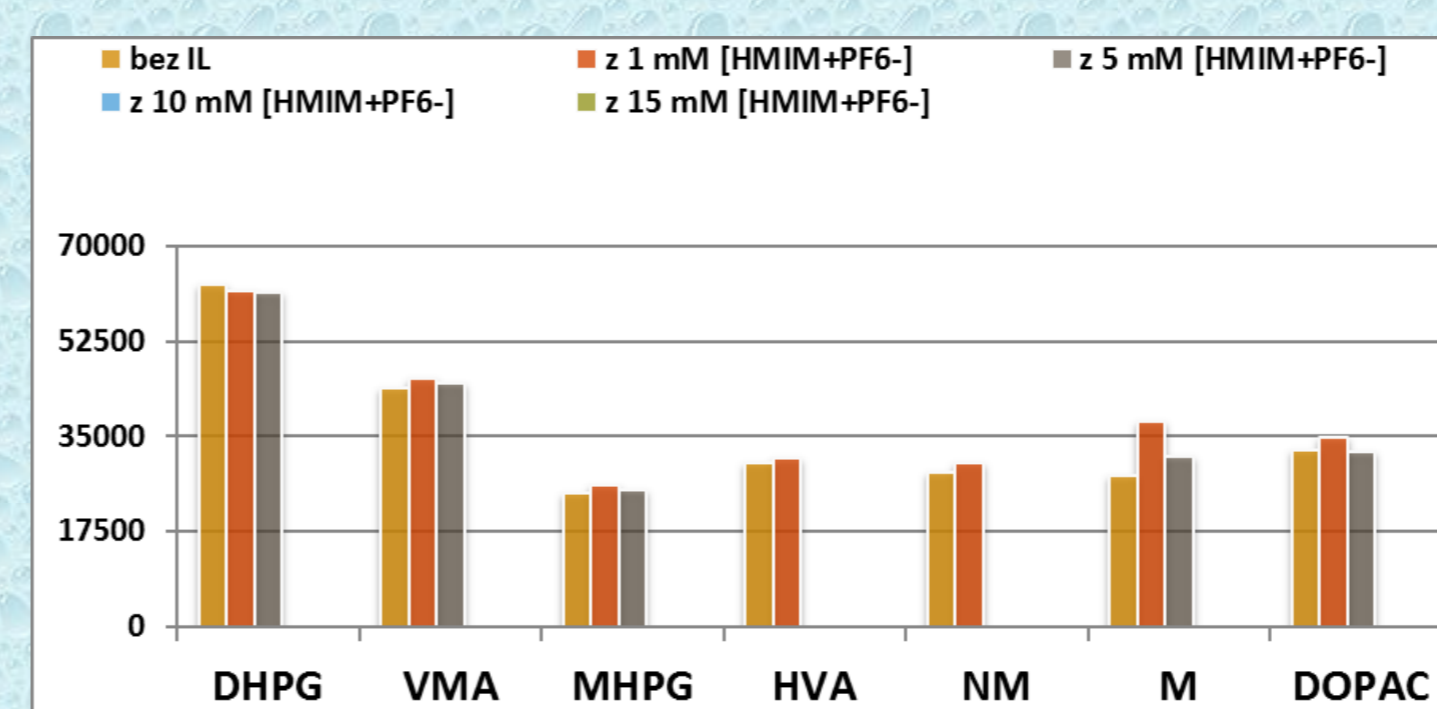
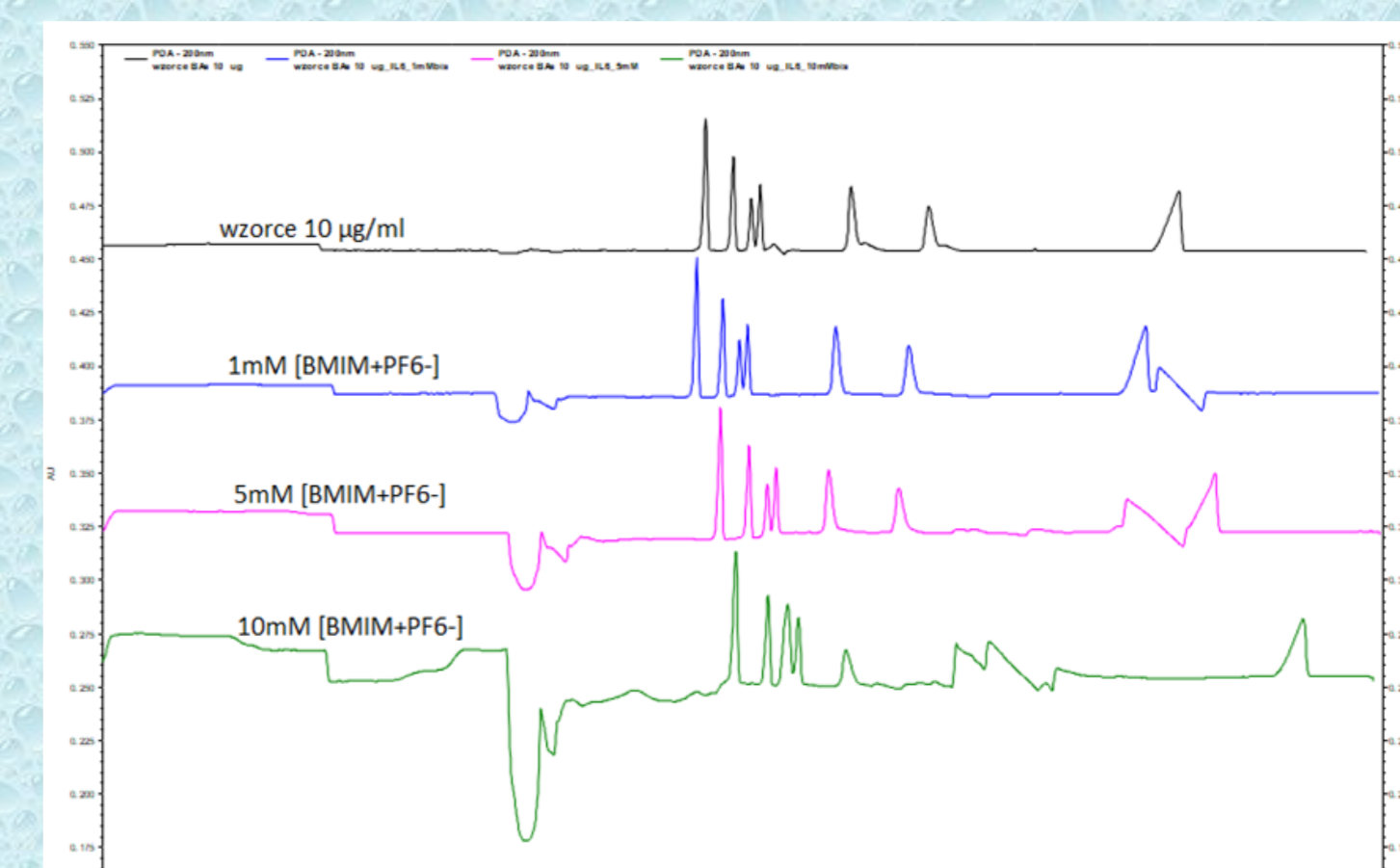
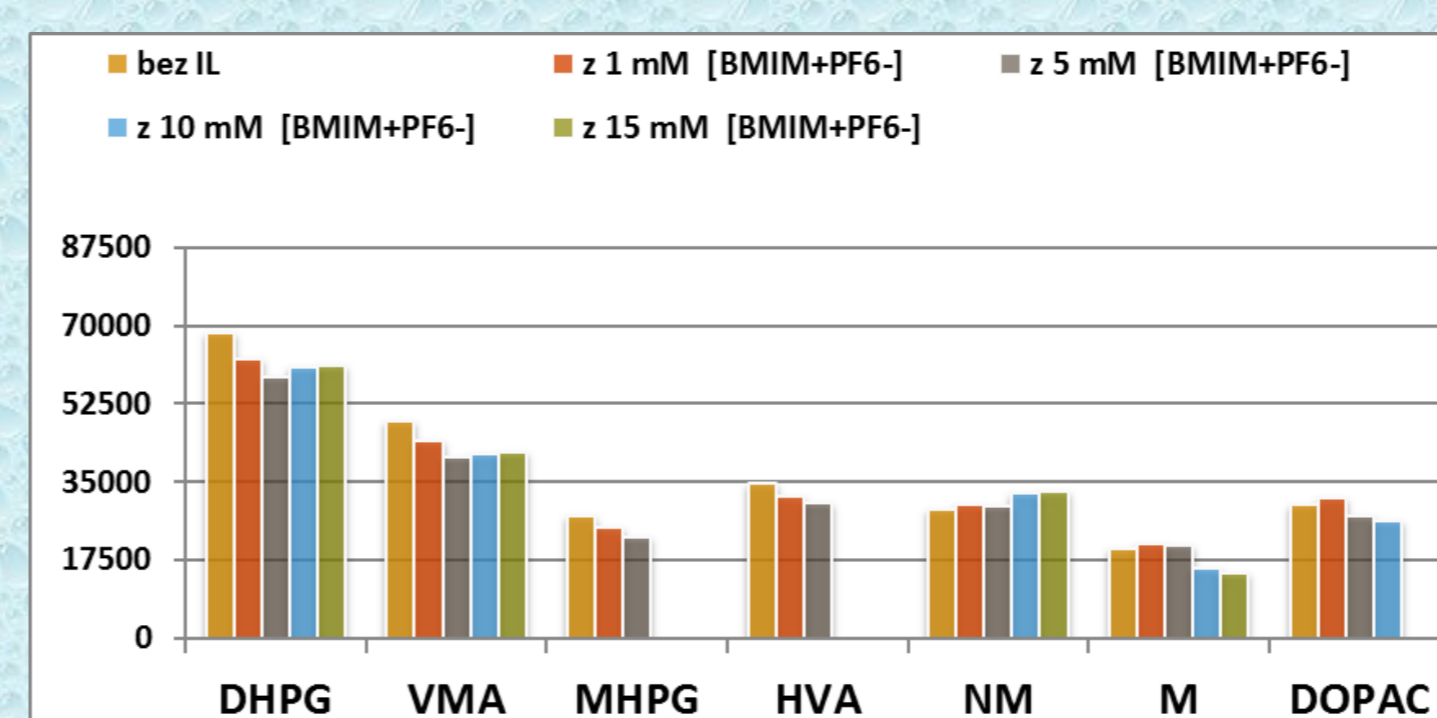
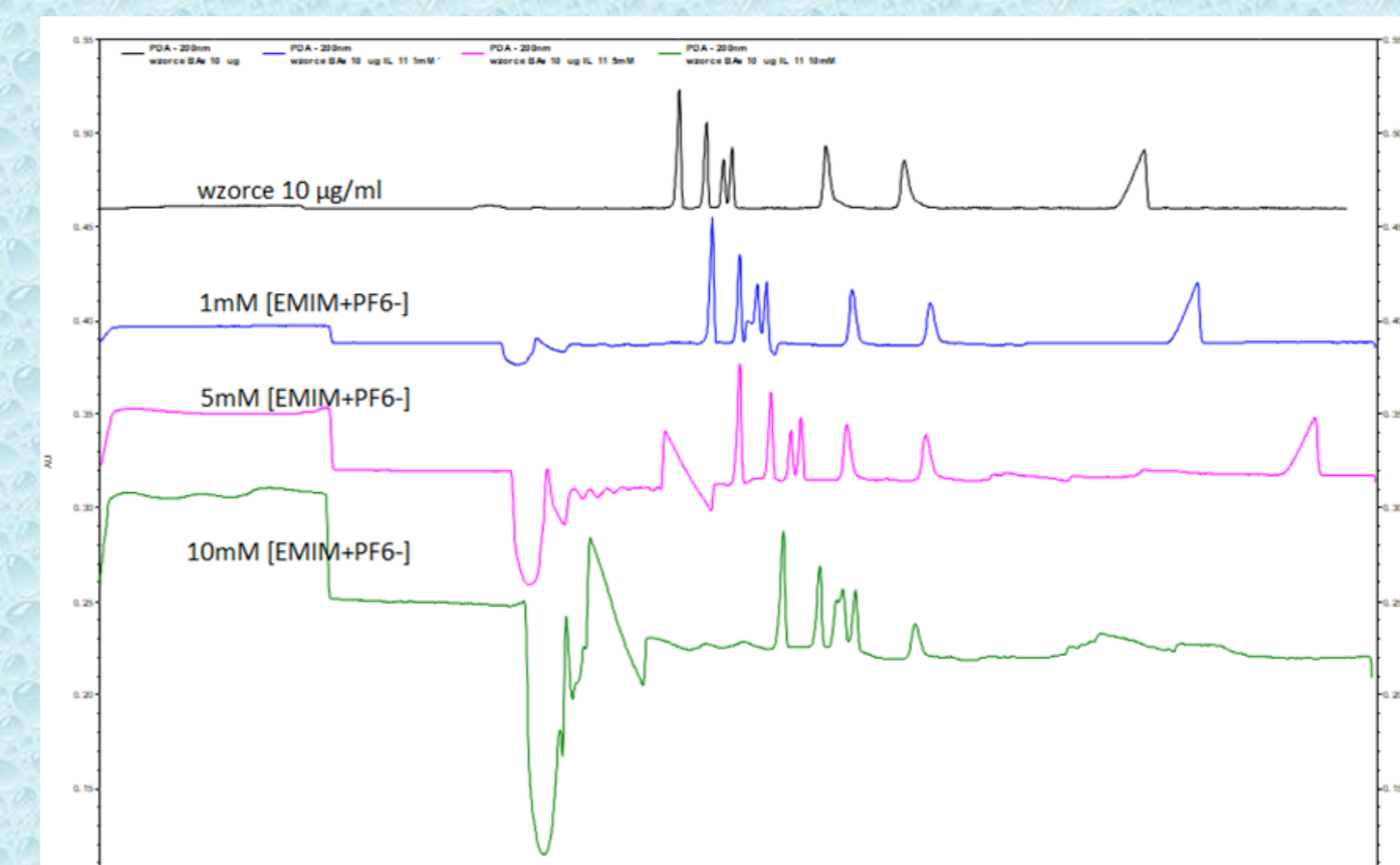
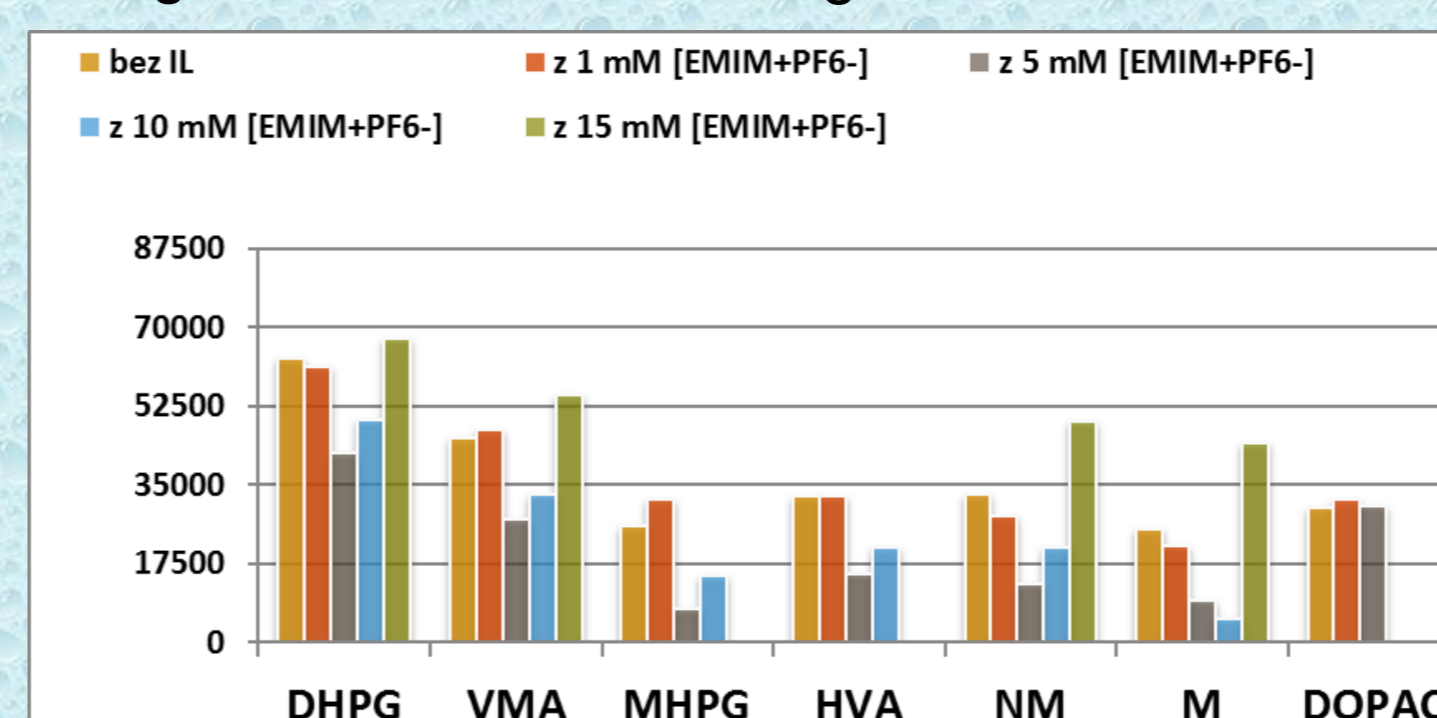
Najbardziej obiecującymi cieczami jonowymi wydają się być ciecze z anionem chlorkowym: 1-ethyl-3-methylimidazolium chloride ([EMIM + Cl-], oraz 1-hexyl-3-methylimidazolium chloride [HMIM + Cl-]). Ponadto, zaobserwowano poprawę w separacji amin dla cieczy z anionem heksafluorofosforanowym. Najmniej przydatne okazały się być, ciecze jonowe z anionem tetrafluoroboranowym. Natomiast wzrost stężenia IL w buforze powyżej wartości CMC powoduje tworzenie się miceli w BGE i ma wpływ na wartość EOF. Takie zjawisko zaobserwowano przy dodatku cieczy jonowej 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate.

## Piśmiennictwo

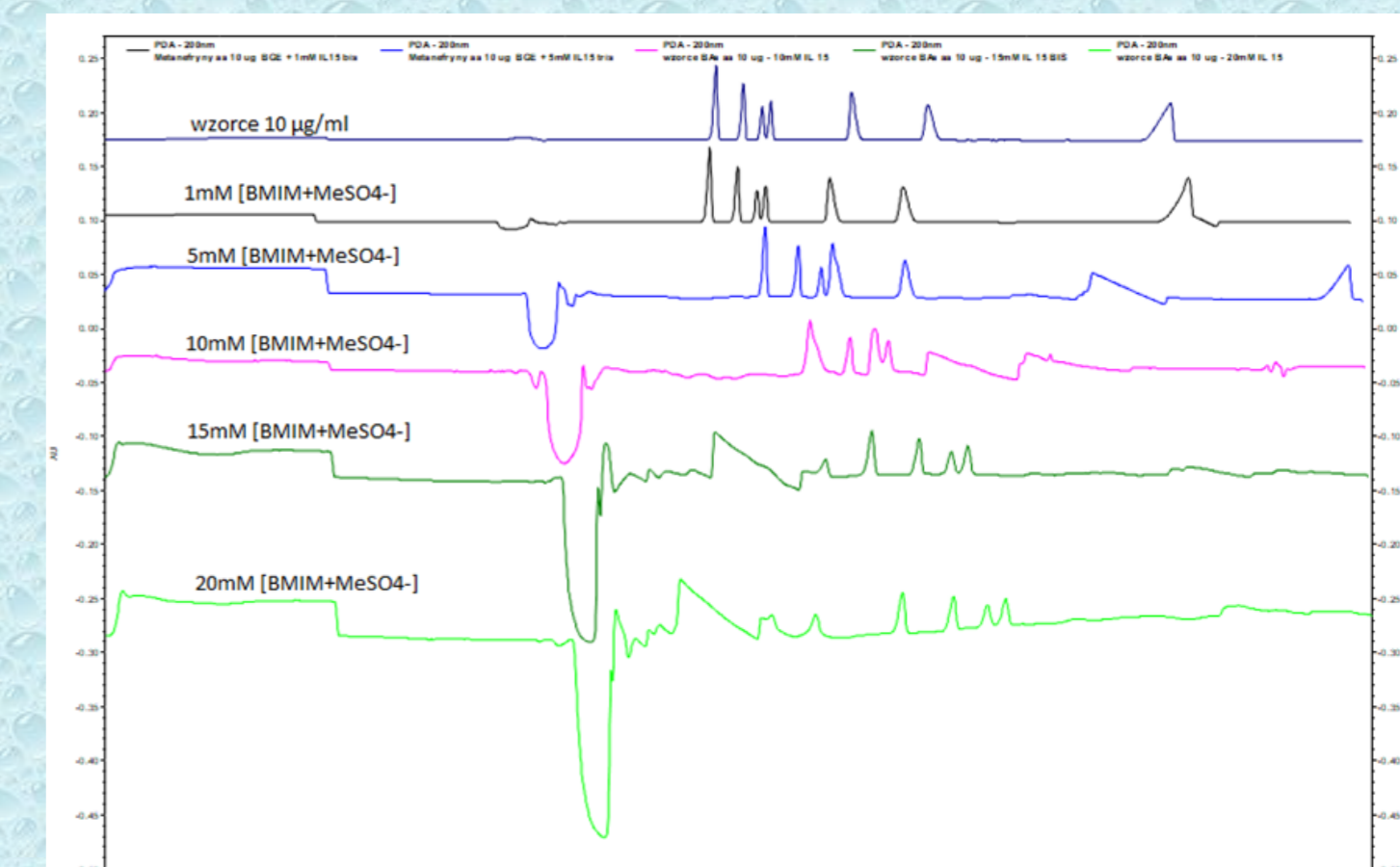
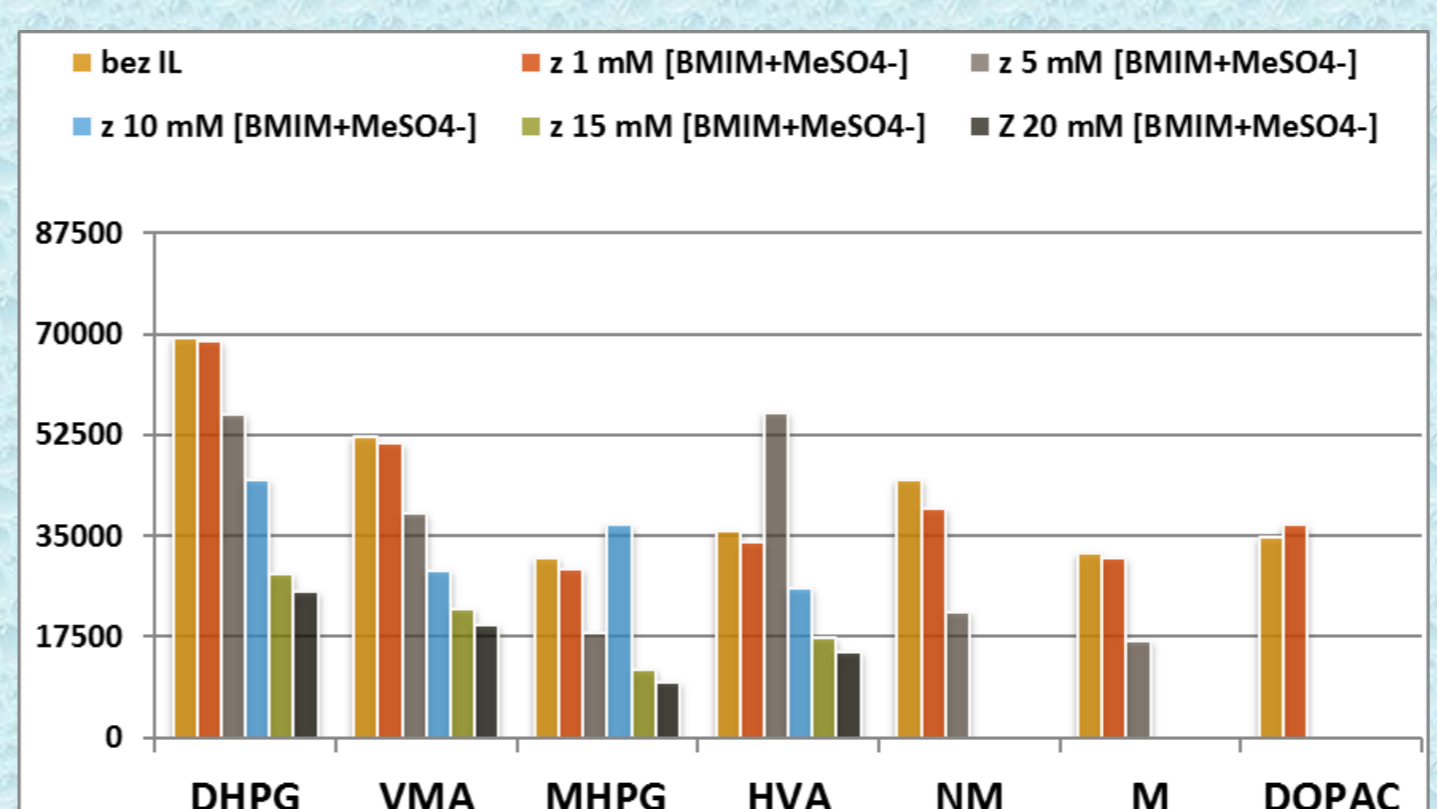
- [1] E. Kolobova, L. Kartsova, A. Kravchenko, E. Bessonova, „Imidazolium ionic liquids as dynamic and covalent modifiers of electrophoretic systems for determination of catecholamines”, *Talanta* 188 (2018) 183–191.  
[2] N. Kossakowska, I. Ołędzka, A. Kowalik, N. Miękus, P. Kowalski, A. Plenis, E. Bień, A. Kaczorowska, M., A. Krawczyk, E. Adamkiewicz-Drożyńska, T. Bączek, „Application of SPME supported by ionic liquids for the determination of biogenic amines by MEKC in clinical practice”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 173 (2019) 24-30.

## Analiza BAs z dodatkiem IL do BGE

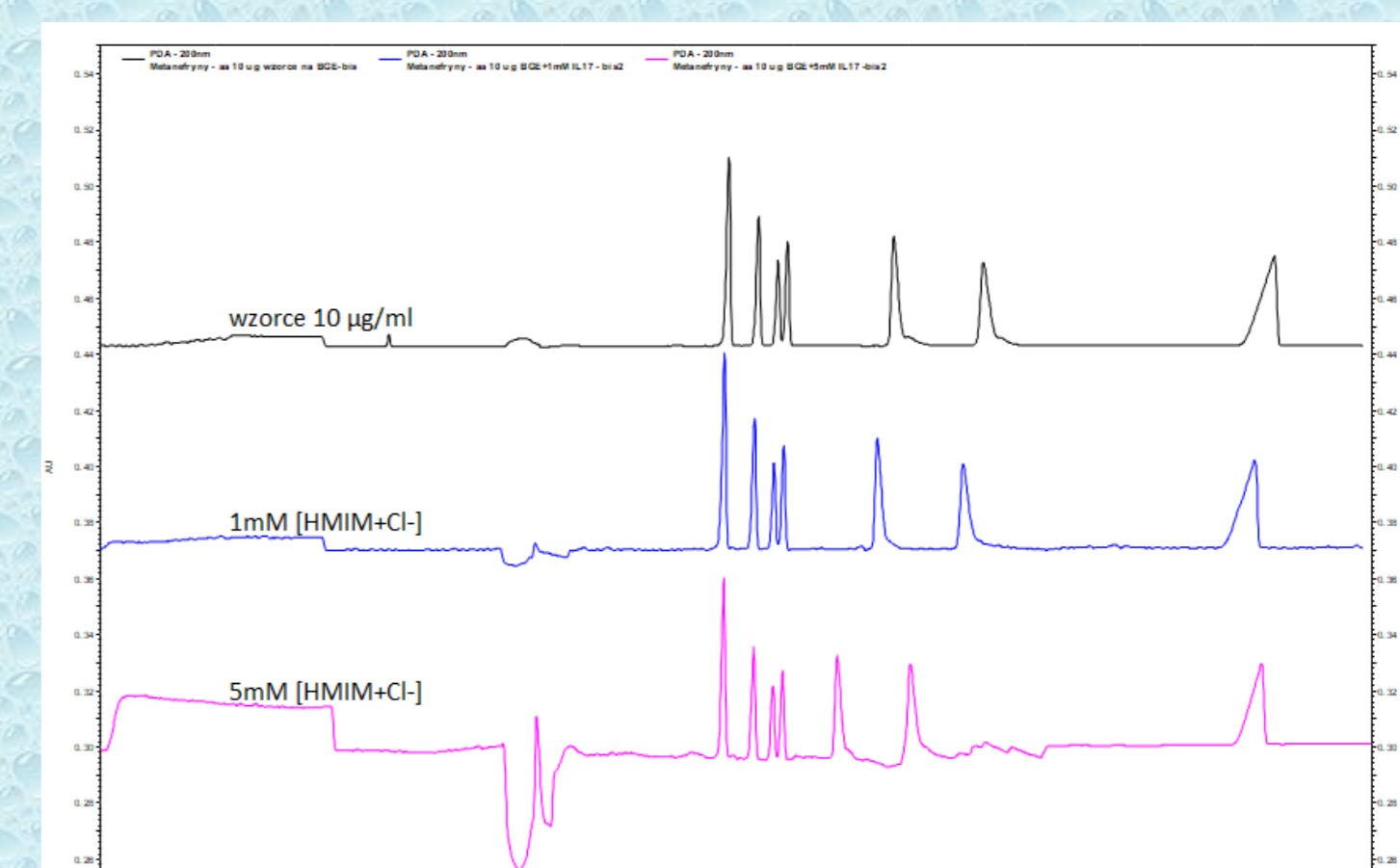
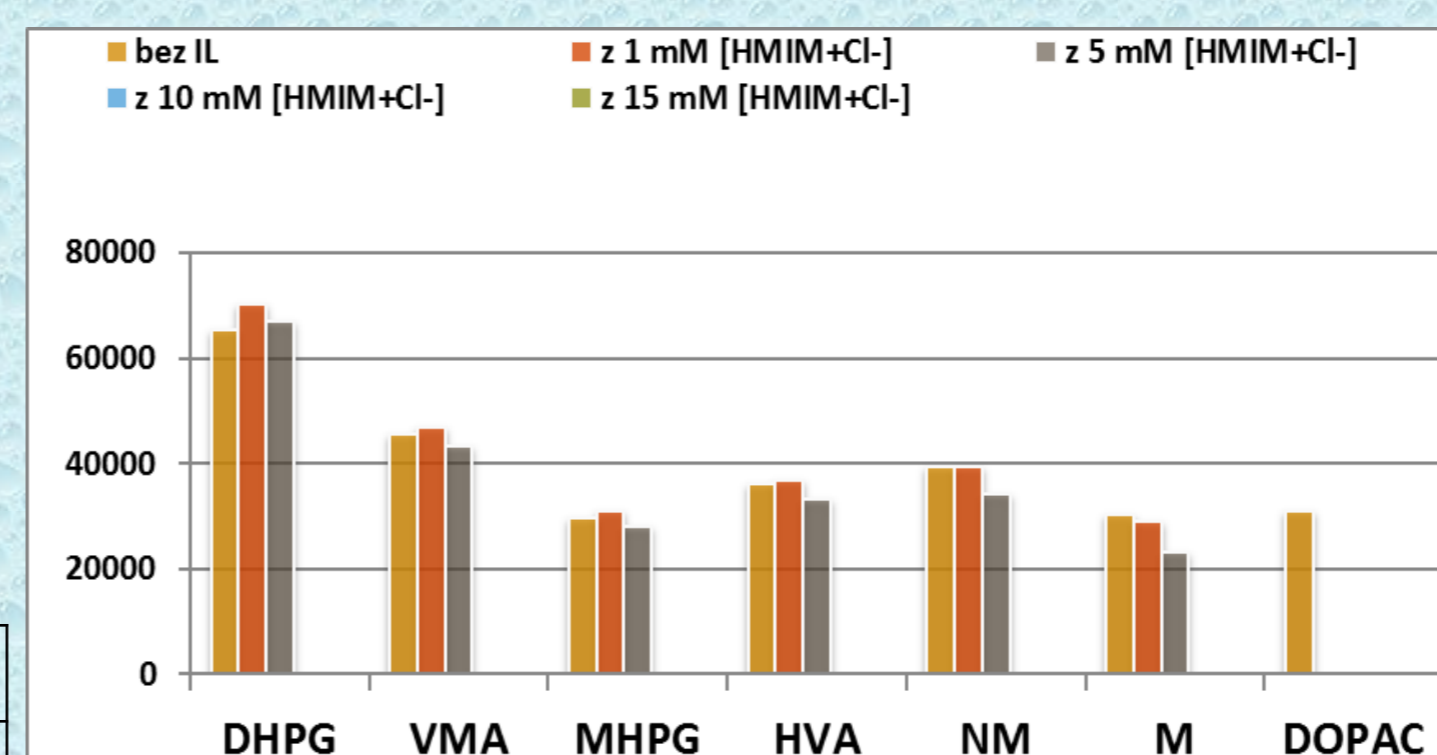
### 1. Anion heksafluorofosforanowy oraz wpływ długości łańcucha alkiłowego



### 2. Anion metylosiarczanowy



### 3. Anion chlorkowy



## Dyskusja otrzymanych wyników

Dodatek 1mM cieczy [EMIM+Cl-] do BGE spowodował wzrost wysokości sygnałów większości analitów: DHPG, VMA, HVA, NM, M w tym znaczący MHPG z wyjątkiem DOPAC. Zauważono również poprawę stabilności warunków analizy i dużą powtarzalność czasów migracji badanych związków z wyjątkiem DOPAC. Stężenie 5mM tej cieczy jonowej w BGE powoduje nieznaczny wzrost sygnału M oraz przesunięcie czasów migracji i niestabilność linii podstawowej buforu. Obiecujące wyniki otrzymano dla cieczy [HMIM+Cl-], gdyż zaobserwowano dużą powtarzalność czasów migracji w poszczególnych analizach oraz dobrą wydajność separacji także dla sygnału DOPAC, którego ruchliwość elektroforetyczna bardzo zmieniała się pod wpływem dodatku innych cieczy do BGE. Dodatek 1mM [HMIM+Cl-] spowodował niewielki wzrost wysokości pików większości analitów DHPG, VMA, MHPG, HVA, NM. Ponadto, w przypadku cieczy z anionem heksafluorofosforanowym, zwiększenie długości łańcucha w pozycji 1 pierścienia 3-metyloimidazolowego pomaga w stabilizacji warunków separacji i wpływa na powtarzalność czasów migracji badanych związków. Najmniej skuteczne okazały się ciecze z anionem tetrafluoroboranowym. Dodatek tych cieczy w wyższych stężeniach powodował najczęściej niestabilny obraz elektroforetyczny, ale także przesunięcie czasów migracji badanych amin, co zmniejszało skuteczność separacji. Ciecz jonowa [BMIM+MeSO<sub>4</sub>-] w stężeniu 1mM spowodowała niewielki wzrost siły sygnału DOPAC. Dla większości analitów dodatek 5mM IL spowodował spadek wysokości pików, jednocześnie wydłużając czasy migracji analitów i wpływając niekorzystnie na wydajność separacji. Zaś stężenie 10mM spowodowało wzrost siły sygnału dla MHPG, jednak uzyskany obraz elektroforetyczny wskazuje na dalsze zaburzenia separacji i możliwość ko-migracji MHPG i HVA. Warte uwagi jest to, że przy stężeniu 15 i 20 mM nastąpiła poprawa stabilności obrazu elektroforetycznego dla DHPG, VMA, MHPG i HVA.