

Metodický list č.7:

## **Rýchla CZE-UV metóda pre stanovenie serotonínu, dopamínu a tyramínu v jednoduchých matriciach**

### **CHARAKTERISTIKA:**

Biogénne amíny – serotonín, dopamín, tyramín, sú dôležité molekuly pre ľudský organizmus, pretože môžu plniť rozličné funkcie – napr. neurotransmitery, markery zápalových alebo onkologických ochorení, a i. Na základe svojich chemických vlastností a iónogénnej povahy sú vhodnými kandidátmi pre ich analýzu pomocou elektromigračných separačných analytických metód. Kapilárna zónová elektroforéza (CZE) s UV-VIS detekciou je schopná poskytnúť rýchle a jednoduché stanovenie príslušných biogénnych amínov na adekvátnej koncentračnej hladine v jednoduchších matriciach (elektrolytové roztoky, upravené reálne vzorky, napr. farmaceutické, biologické, environmentálne).

**Zariadenie:** Elektroforetický analyzátor EA 102 v jednokolónovom usporiadaní (Villa Labeco, Spišská Nová Ves, Slovensko), UV-VIS detektor (ECOM, Praha, Česká republika)

**Príprava vzorky:** Vzorka štandardov jednotlivých látok nariadená demineralizovanou vodou na vhodnú koncentráciu priamo injektovaná do elektroforetického analyzátoru cez kohút dávkovacieho bloku s vnútornou slučkou o objeme 200 nL.

### **Podmienky:**

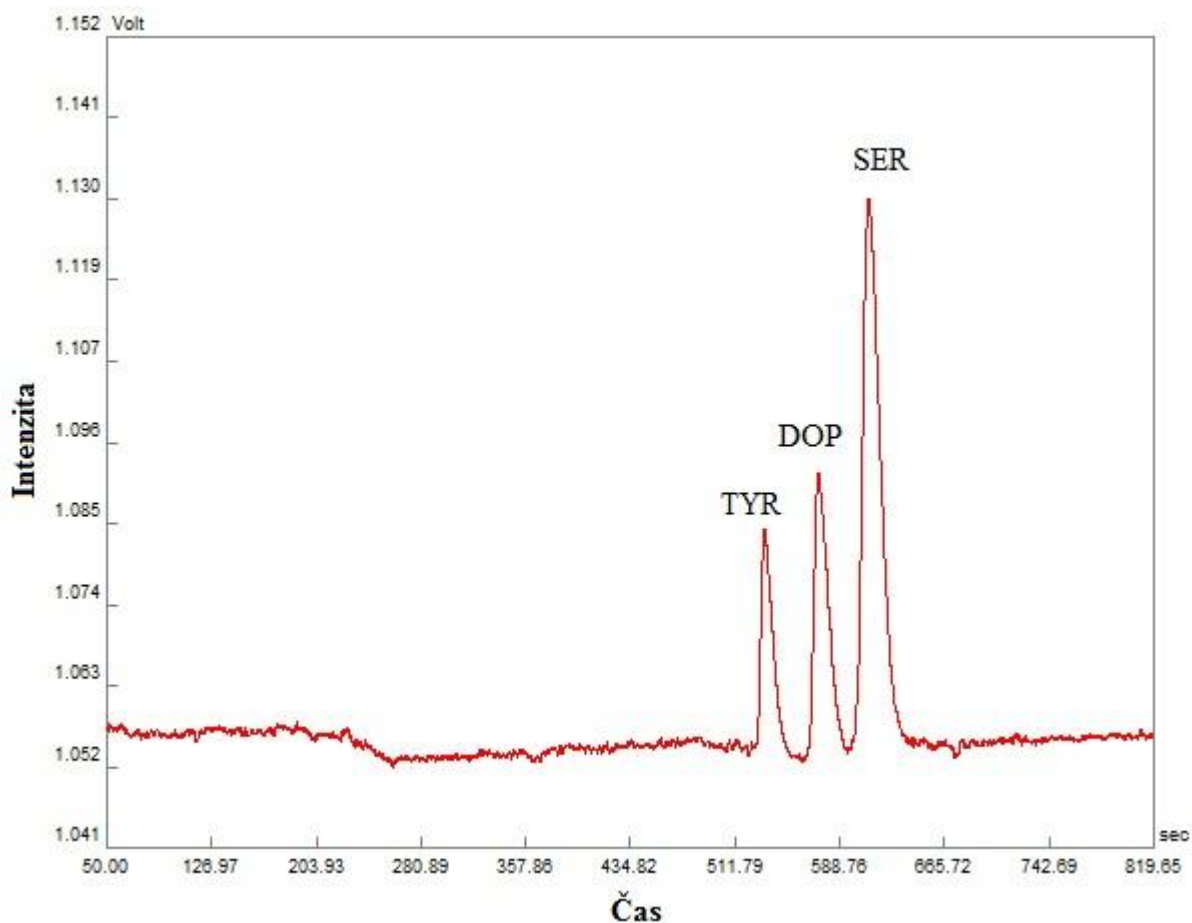
Separáčny systém:

CZE – polytetrafluóretylénová kapilára s vnútorným priemerom 300  $\mu$ m  
a dĺžkou 160 mm

Nosný elektrolyt: 10 mM NH<sub>4</sub>Ac + 30 mM HAc + 10 mM HP- $\beta$ -CD + 30%  
izopropanol (pH 5,18)

Separáčny prúd v CZE kroku: 80  $\mu$ A

Detekčná vlnová dĺžka:  $\lambda = 276 \text{ nm}$



**Obr.1:** Elektroforeogram získaný z procesu CZE-UV analýzy štandardov trojice látok – tyramín (TYR), dopamín (DOP) a serotonín (SER) v demineralizovanej vode. Injektovaný objem 200 nL, koncentrácia injektovaných látok – 10  $\mu\text{g/ml}$ .

**Tab. 1:** Operačné parametre CZE-UV metódy pre hodnotenie TYR, DOP, SER.

| Parameter                        | Tyramín | Dopamín | Serotonín |
|----------------------------------|---------|---------|-----------|
| $t_m$ [min]                      | 9,05    | 9,76    | 10,30     |
| $RSD_{t_m}$ [%], n = 6           | 0,28    | 0,45    | 0,40      |
| $RSD_{\text{plocha}}$ [%], n = 6 | 6,88    | 3,08    | 7,34      |
| $r^2$                            | 0,9979  | 0,9946  | 0,9932    |
| LOD [ $\mu\text{g/ml}$ ]         | 0,2     | 0,2     | 0,1       |
| N                                | 31 731  | 23 803  | 21 554    |
| R                                | 3,02    |         | 1,97      |

$t_m$ -migračný čas, RSD-relatívna smerodajná odchýlka, n-počet meraní,  $r^2$ -koeficient stanovenia, N-účinnosť, LOD-medza detekcie, R-rozlíšenie