

MINIATURIZACE & AUTOMATIZACE

dva nejdůležitější trendy v analytických separačních metodách

Vladislav Kahle

Ústav analytické chemie AV ČR
Veveří 97, 61142 Brno

Separáční metody v analytick chemii

Chromatografick: plynov chromatografie (GC, CGC)
kapalinov chromatografie (HPLC)

Elektromigrační: elektroforéza (CE)
izoelektrick fokusace (CIEF)
elektrochromatografie (CEC)

Instrumentace

CGC



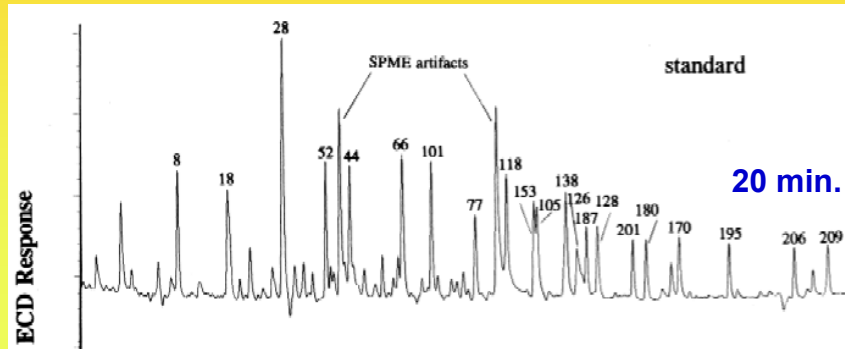
LC



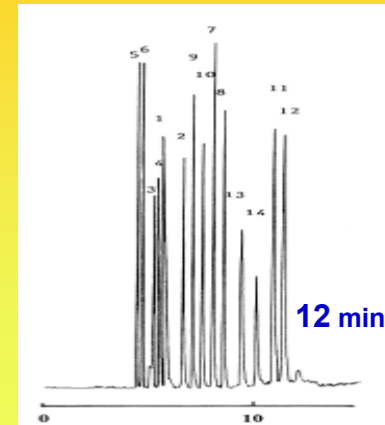
CE



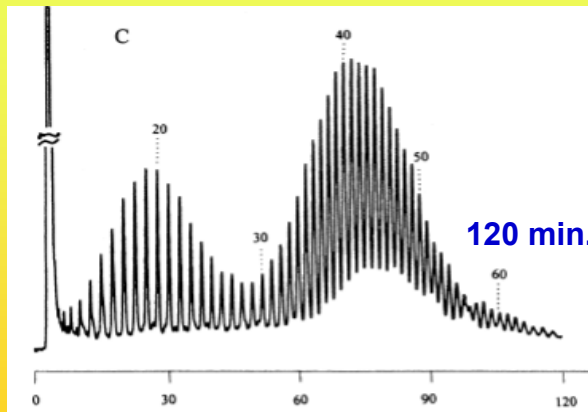
Příklady separací (GC, LC, CE)



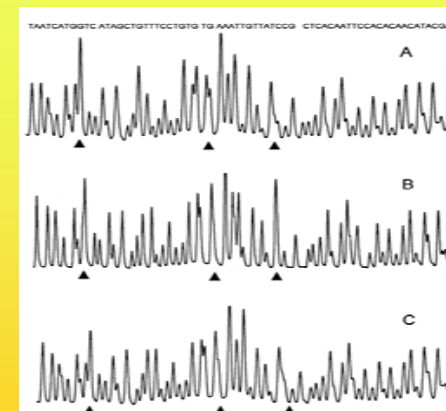
Kapilární plynová chromatografie PCBs



Kapilární elektroforéza nukleotidů



Vysokoúčinná kapalinová chromatografie PEGs



Kapilární elektroforéza DNA

Celková doba analýzy

a její zkrácení pomocí automatizace a miniaturizace

Doba předběžných operací
(příprava vzorku, dávkování,
kondicionování kolony.....)

AUTOMATIZACE

Doba vlastní separace

MINIATURIZACE

Kritéria výkonnosti:

preparativní metody: **výkon = m/t** (hmotnost za jednotku času)

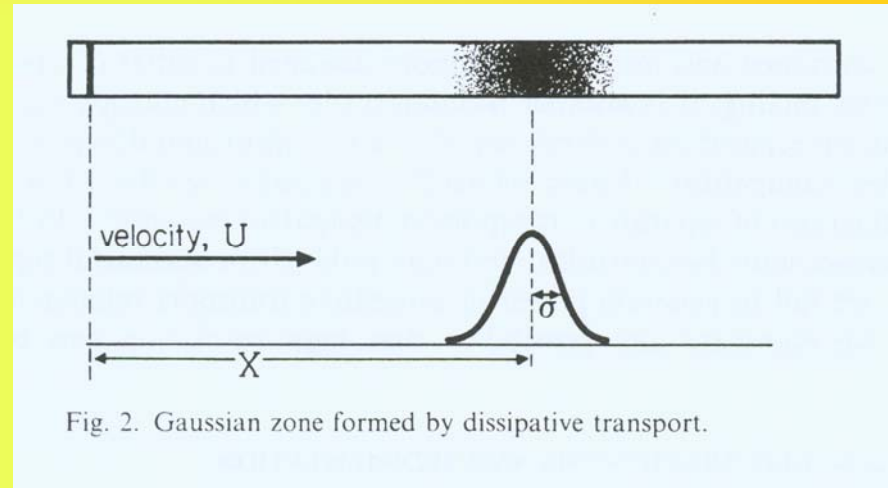
analytické metody: **množství analytické informace
za jednotku času**

Jeden nebo více píků? - fingerprint – koncentrace hledaných látek ve vzorku

výkon = N/t (počet teoretických pater za jednotku času)

$$H = \sigma^2/L$$

H – výška teoretického patra
 σ – standardní odchylka
 σ^2 – variance Gaussovy křivky
L – délka kolony



Vysoká účinnost = vysoký počet teoretických pater (N) = malé rozmývání zón

$$N = L/H = (L/\sigma)^2$$

.....

Jak může ovlivnit miniaturizace účinnost kolony?

CE – teoretický limit maximální účinnosti: Einstein $\sigma^2 = 2Dt$

D – difuzní koeficient, t – čas

žádáme vysoký výkon (N/t) – zvýšení rychlosti pomocí vysokých hodnot E (U/L) [V/cm]

to však vede k vyššímu proudu a nutnosti dissipace Jouleova tepla

Kritický je průměr kolony – používají se křemenné kolony o vnitřním průměru 25 – 75 μm

Lze miniaturizovat i délku – užívá se u fluidních mikročipů

CGC – Golay $H = 2D/u + d^2u/D$ u – rychlost, d – vnitřní průměr kolony

na separaci se podstatně podílí i pohyb molekul kolmý k ose kolony (rozdělovací rovnováha) účinnost silně ovlivňována vnitřním průměrem kolony zvláště při vyšších rychlostech pro vysoký výkon (N/t) se používají křemenné kolony o vnitřním průměru ~200 μ m další zmenšení průměru (a snížení tloušťky filmu stacionární fáze) vede při vyšších rychlostech k podstatnému zvýšení N/t

HPLC – van Deemter $H = A + B/u + Cu$ ($C = d^2/D$)

A, B, C – konstanty, u – rychlost, d – průměr částic sorbentu

na separaci se podstatně podílí i pohyb molekul kolmý k ose kolony (rozdělovací rovnováha) účinnost silně ovlivňována průměrem částic sorbentu zvláště při vyšších rychlostech pro vysoký výkon (N/t) se používají silikagelové sorbenty o průměru částic 3-5 μ m další zmenšení průměru částic (UPLC) při využití vyšších rychlostí vede k podstatnému zvýšení N/t

Rozměry kolony (4 mm x 150-250 mm délka) přitom mohou zůstat zachovány, nebo zmenšeny

Mimokolonové příspěvky k rozmytí separovaných zón

$$\sigma^2_{\text{tot}} = \sigma^2_{\text{col}} + \sigma^2_{\text{ex}} \quad (\text{variance: celková, kolonová, mimokolonová})$$

Mimokolonové příspěvky k rozmytí zón snižují účinnost separace a tedy i její výkon.

Jsou způsobeny např. nadměrným objemem dávkovaného vzorku, rozmytím ve spojovacích kapilárách (HPLC), velkým objemem detekční cely, časovou konstantou záznamového zařízení atd.

ZÁVĚRY

- miniaturizace a automatizace jsou dva nejdůležitější trendy v analytických separačních metodách
- miniaturizace je výsledkem pochopení procesů, ke kterým dochází v průběhu separace a jejím cílem je zvýšení výkonu jednotlivých separačních technik
- automatizace umožňuje vysoce reprodukovatelné řízení separačního procesu bez potřeby lidské obsluhy