

MINIATURIZACE & AUTOMATIZACE

dva nejdůležitější trendy v analytických separačních metodách

Vladislav Kahle

Ústav analytické chemie AV ČR
Veveří 97, 61142 Brno

Separační metody v analytické chemii

Chromatografické: plynová chromatografie (GC, CGC)
kapalinová chromatografie (HPLC)

Elektromigrační: elektroforéza (CE)
izoelektrická fokusace (CIEF)
elektrochromatografie (CEC)

Instrumentace

CGC



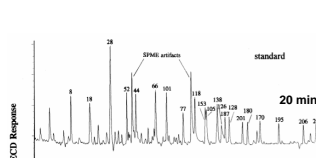
LC



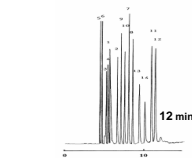
CE



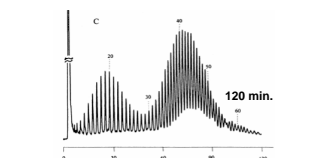
Příklady separací (GC, LC, CE)



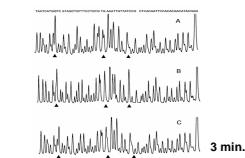
Kapilární plynová chromatografie PCBs



Kapilární elektroforéza nukleotidů



Vysokoučinná 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)

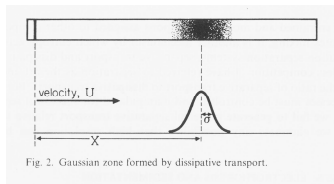
analytické metody: **množství analytické informace
za jednotku času**

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 μ m

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

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

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

Jsou způsobeny např. nadměrným objemem dávkovaného vzorku, rozmýváním 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