



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

# POPIS VYNÁLEZU

## K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

196 045

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavní priorita  
(22) Přihlášeno 23. 11. 77  
(21) PV 7709-77

(51) Int. Cl.<sup>3</sup> G 01 N 17/26

(40) Zveřejněno 29. 06. 79  
(45) Vydáno 01. 3. 82

(75)

Autor vynálezu DEML MIRKO, ing., BOČEK PETR, RNDr., CSc., a JANÁK JAROSLAV, doc., ing., DrSc.,  
BRNO.

(54) Způsob izotachoforetické analýzy látek

1

Vynález se týká způsobu izotachoforetické analýzy látek.

Izotachoforéza je elektromigrační separační metoda, při níž se iontové složky v roztoku separují navzájem působením elektrického pole. Provádí se v separační kapiláře opatřené nástřikovým zařízením a detektorem. Izotachoforéza se provádí tak, že se separační kapilára naplní z jedné strany až po nástřikové zařízení tak zvaným vedoucím elektrolytem a z druhé strany, až po nástřikové zařízení, tak zvaným zakončujícím elektrolytem. Vzorek analyzované látky se vnese nástřikovým zařízením mezi vedoucí a zakončující elektrolyty. Vhodným připojením napětí na oba konce kapiláry začne kapilárou procházet elektrický proud, dochází k migraci a separaci přítomných iontových složek tak, že se vytvoří ostře ohraničené zóny jednotlivých složek. Tyto zóny migrují kapilárou a prochází detekční celou, kde jsou detekovány. Pro separaci určitého množství vzorku je třeba, aby prošel kapilárou určitý minimální elektrický náboj. Čím je vzorek komplikovanější směsí iontových složek a čím menší jsou rozdíly mobilit přítomných složek, tím větší elektrický náboj je nutný k úplné separaci. Průchodem elektrického náboje kapilárou dochází však nejen k separaci složek do jednotlivých zón, ale zároveň i k migraci těchto zón kapilárou a sice od nástřiku do detektoru. Z hlediska užití izotachoforézy jako analytické metody je třeba, aby do detektoru doputoval vzorek již ve stavu, kdy separace je ukončena, to je jednotlivé složky tvoří samostatné zóny. Délka zóny každé jednotlivé separované složky je

198 045

úměrná množství dané složky v dávkovaném vzorku k analýze. Aby byly všechny vzniklé zóny detekovatelné a dobře analyticky vyhodnotitelné, musí být dávkované množství vzorku k analýze dostatečně velké. Avšak, jak již bylo řečeno dříve, analýzy velkých množství vzorku anebo vzorků značně komplikovaných vyžadují, aby separace probíhala při daném elektrickém proudu dostatečně dlouhou dobu.

Dosavadní způsoby izotachoforetické analýzy komplikovaných vzorků, to jest dosažení úplné separace analyzované směsi do jednotlivých dostatečně dlouhých zón a analyticky kvantitativně vyhodnotitelná detekce všech vzniklých zón, jsou dva.

Izotachoforetická analýza v separační kapiláře opatřené nástřikovým zařízením a detektorem, kde celá oblast separační kapiláry od nástřikového zařízení do detektoru včetně je před separací naplněna vedoucím elektrolytem a kde volba doby, po níž může separace probíhat, se provádí mechanickou výměnou různě dlouhých kapilár. Nevýhodou tohoto způsobu je nutnost mechanické montáže. Navíc použití delší kapiláry klade zvýšené nároky na použité elektrické napětí a elektrickou izolaci celého zařízení.

Izotachoforetická analýza v protiproudém uspořádání, kde separační kapilára mezi nástřikovým zařízením a detektorem včetně je naplněna vedoucím elektrolytem a kde se volba doby, po níž může separace probíhat, provádí tak, že po určitou dobu během separace se do kapiláry vhání vedoucí elektrolyt proti směru migrace vzorku. Nevýhodou tohoto způsobu je, že vyžaduje poměrně složité zařízení pro vhánění a regulaci hydrodynamického protiproudu a že hydrodynamický protiproud může narušovat tvorbu ostrých rozhraní mezi zónami.

Výše uvedené nedostatky odstraňuje způsob izotachoforetické analýzy látek podle vynálezu, jehož podstatou je, že analyzovaný vzorek se nechá postupně migrovat nejméně jednou oblastí naplněnou před separací nejméně jedním pomocným elektrolytem a poté oblastí naplněnou před separací vedoucím elektrolytem, ve které se provádí detekce.

Izotachoforetická analýza podle vynálezu umožňuje separace obtížně separovatelných vzorků v kolonách s dosud používanou délkou separační kapiláry. Dále umožňuje uskutečnit uvedené separace v časech úměrných jejich obtížnosti bez nároků na zvýšení napětí zdroje elektrického proudu. Při změně separovaného vzorku za vzorek snáze nebo obtížněji separovatelný lze provádět analýzu na téže zařízení s toutéž separační kapilárou.

Vynález blíže objasňuje přiložený výkres, kde na obr. 1 až obr. 3 jsou uvedeny schematické průběhy separace, na obr. 4 a 5 jsou záznamy analýz.

Kapilára 30 na obr. 1 je naplněna zprava od ústí 34 napouštěcího zařízení a místem 33 nástřikového zařízení pomocným elektrolytem 41; v místě 33 nástřikového zařízení je v kapiláře 30 umístěn vzorek 42, od něhož vlevo je zakončující elektrolyt 43. V popisovaném případě je pomocný elektrolyt 41 tvořen vedoucím elektrolytem o vyšší koncentraci. Na obr. 2 je stav v kapiláře 30 v určitém časovém okamžiku separace. Vzorek 42 odmigroval do oblasti původně naplněné elektrolytem 41 a vznikly zóny 42a a 42b čistých látek ze vzorku. Zóna 42c je směsná zóna. Na obr. 3 je stav v kapiláře 30, kdy separace již je

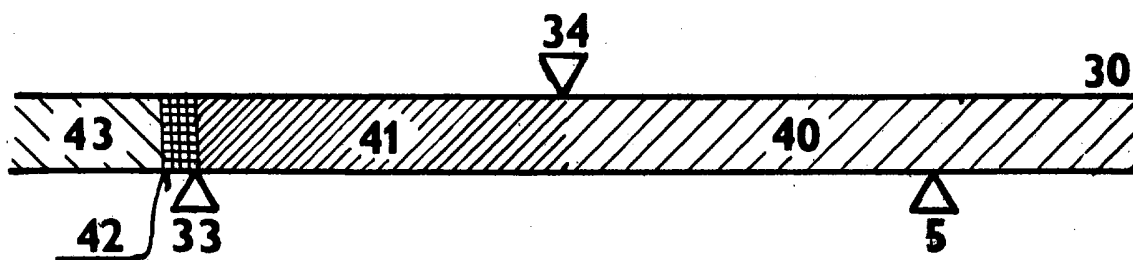
ukončena a v místě detekční cely 2 je již zóna 42A koncentračně nastavená na vedoucí elektrolyt 40. Zóny 42b a 42B obsahují tutéž složku ze vzorku, zóna 42b je koncentračně nastavena na pomocný elektrolyt 41, zóna 42B na vedoucí elektrolyt 40. Z výkresu je zřejmé, že bylo dosaženo úplné separace a vzniklé zóny 42A a 42B jsou dostatečně dlouhé a tedy dobře analyticky vyhodnotitelné.

Příklad využití způsobu podle vynálezu dokumentující jeho účinek je na obr. 4 a 5. Na obr. 4 je záznam analýzy kapalného fosfátového hnojiva typu N-P, což je vodný roztok ortofosforečnanu a pyrofosforečnanu amonného, podle dosavadního známého způsobu. Analýza byla provedena v kapiláře obdélníkového průřezu 0,2 x 1 mm, o délce od místa nástřiku k detektoru asi 17 cm. Dávkováno bylo 3 ul 250krát zředěného hnojiva. Vedoucím elektrolytem byla 0,01 M kyselina chlorovodíková a 0,02 M urotropin. Zakončujícím elektrolytem byla 0,01 M kyselina glutamová. Proud kapilárou byl 300 uA. Vlna 51 odpovídá zóně pyrofosforečnanu a vlna 52 odpovídá zóně ortofosforečnanu. Vlna 53 odpovídá směsné zóně orto a pyrofosforečnanu. Je vidět, že zóny vzorku prošly místem 2 detekční cely dříve, než byla ukončena separace. Záznam analýzy nelze kvantitativně vyhodnotit a stanovit složení vzorku. Na obr. 5 je analýza téhož vzorku při využití způsobu podle vynálezu, kdy před analýzou byly v téže kapiláře mezi místem nástřiku a místem detekční cely vytvořeny dvě přibližně stejně dlouhé oblasti, jedna naplněná pomocným elektrolytem a druhá naplněná vedoucím elektrolytem. Byl použit též zakončující a vedoucí elektrolyt jako v předchozím případě a dávkován stejný vzorek. Pomocným elektrolytem byla 0,05 M kyselina chlorovodíková a 0,1 M urotropinu. Proud byl opět 300 uA. Vlna 51 odpovídá zóně pyrofosforečnanu, vlna 52 zóně ortofosforečnanu. Protože na záznamu již není přítomna vlna 53 odpovídající směsné zóně, znamená to, že došlo k úplné separaci složek vzorku a kvantitativně vyhodnotitelné detekci, tj. k úspěšnému provedení celé analýzy.

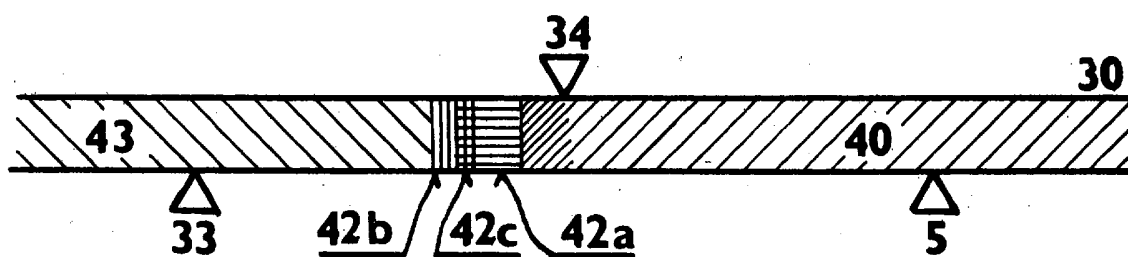
#### P R E D M Ě T V Y N Á L E Z U

Způsob izotachoforetické analýzy látek, vyznačený tím, že analyzovaný vzorek se nechá postupně migrovat nejméně jednou oblastí naplněnou před separací nejméně jedním pomocným elektrolytem a poté oblastí naplněnou před separací vedoucím elektrolytem, ve které se provádí detekce.

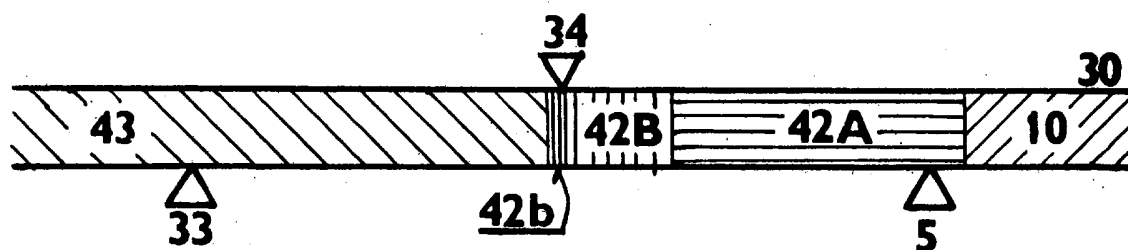
5 výkresů



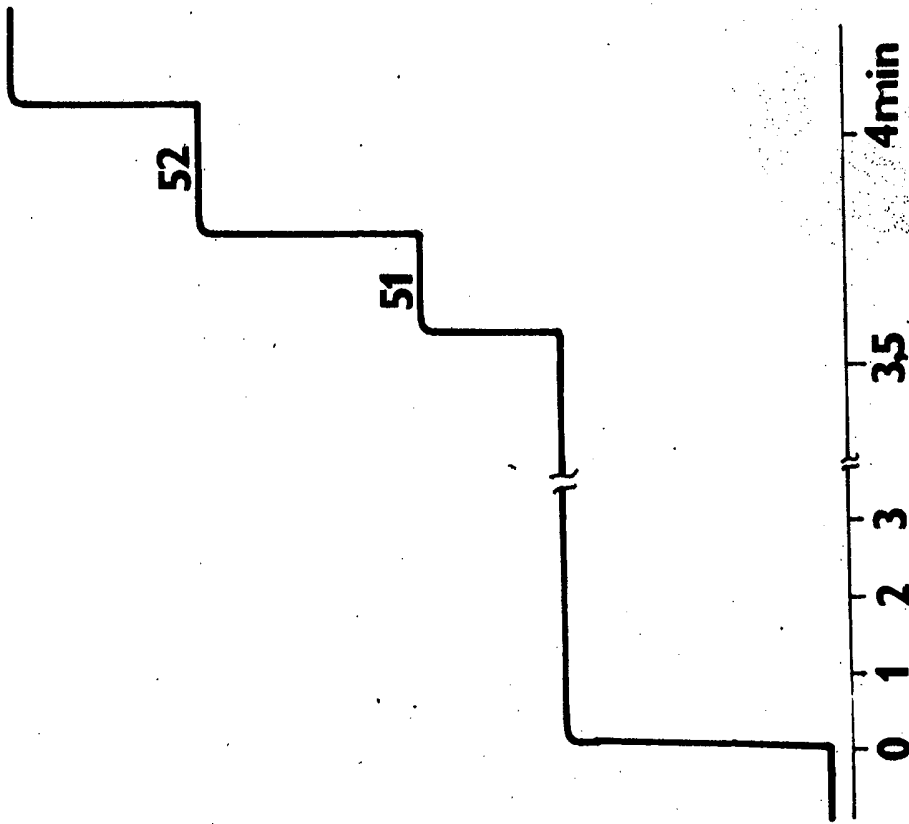
Obr. 1



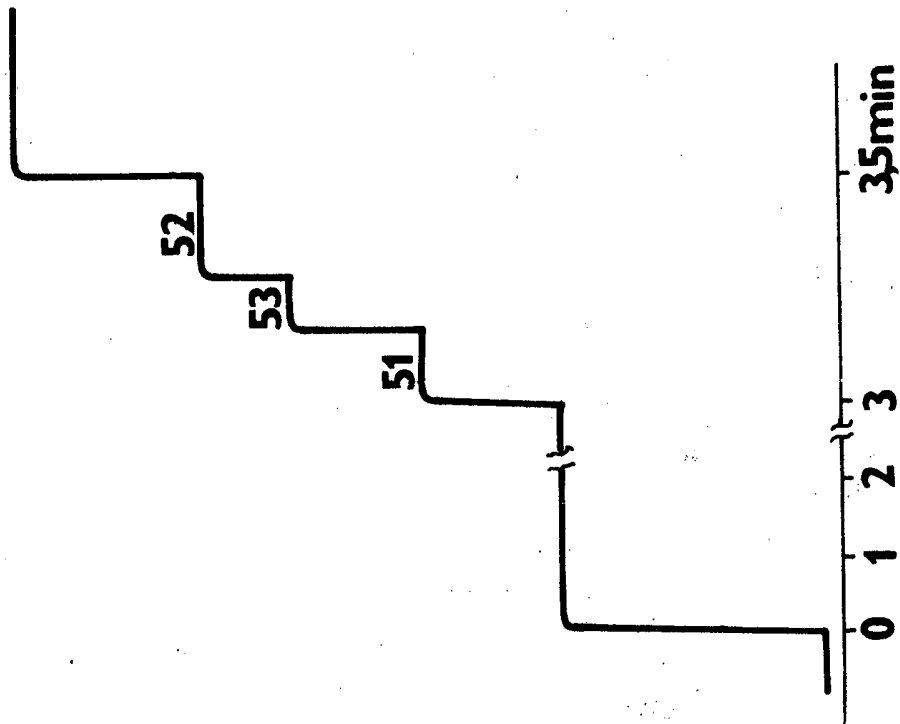
Obr. 2



Obr. 3



Obr. 5



Obr. 4