



ÚRAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

246727
(11) (B1)

(51) Int. Cl.⁴
G 01 N 27/26

(22) Přihlášeno 27 07 84
(21) (PV 5782-84)

(40) Zveřejněno 17 04 86

(45) Vydáno 15 12 87

(75)

Autor vynálezu

DOLNÍK VLADISLAV RNDr., DEML MIRKO ing.,
BOČEK PETR RNDr. DrSc., BRNO

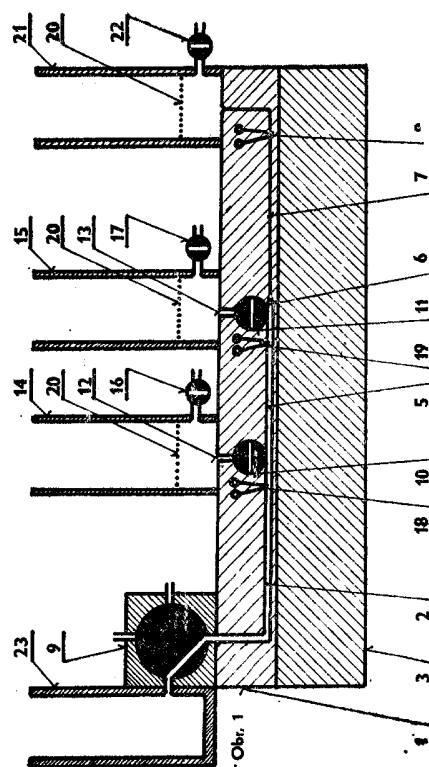
(54) Způsob izotachoforetické analýzy a kolona k jeho provádění

1

Podstatou způsobu je, že analyzovaný vzorek je nejprve rozseparován v gelu a poté analyzován ve volném roztoku.

Kolona pro tuto analýzu je opatřena nejméně jedním separačním plochým kanálem přecházejícím přes první redukční kanál do vyrovnávacího kanálu a přes druhý redukční kanál do detekčního kanálu.

2



Vynález se týká způsobu izotachoforetické analýzy a kolony k provádění tohoto způsobu, zejména k separaci velkých objemů vzorků.

Izotachoforetická separace vzorků se obvykle provádí buď v kapiláře ve volných roztocích elektrolytu, nebo ve stabilizujícím prostředí, například v gelu. Zvětšování objemu analyzovaného vzorku zvyšuje nároky na separační náboj k rozseparování vzorku před jeho průchodem detekční celou. To ve svých důsledcích vede u klasického uspořádání s jednou kapilárou k prodloužení separační kapiláry a tím ke zvětšení doby analýzy a zvýšení napětí elektrického zdroje konstatního proudu. Čas analýzy lze zkrátit účinným chlazením. Zvyšují se tím však nároky na zvýšení napětí pro prodlouženou kolonu. Požadavky na použité vysoké napětí lze snížit použitím hydrodynamického protiproudu, prodloužený čas analýzy však nelze již dále krátit. Jiný způsob používá zvýšení zádrže kolony koncentračním skokem elektrolytů s pomocnou elektrodou, kde v separační části kolony je užíván elektrolyt o vyšší koncentraci. Tímto způsobem se snižuje požadované napětí zdroje i čas analýzy. Nevýhodou tohoto způsobu je omezená možnost zvyšování koncentrace elektrolytů. Dalším způsobem je technika spojených kolon, kdy se zvýšení zádrže separační části kolony dosahuje zvětšením jejího geometrického průřezu. Protože průměr kapiláry je limitován stabilizačním efektem do 1 mm, zařízení s více sériově zapojenými kanály se neužívá. Vlastní vstup do kapiláry většího průřezu bývá řešen úzkým kanálkem, kolmým na směr elektrického pole v separační kapiláře. Nevýhodou tohoto uspořádání je přehřívání kanálku při vyšších proudcích a omezení možností použití kapilár pouze do průměru asi 0,8 mm. Použitím kapilár o větším průměru se snižuje stabilizační efekt.

Tyto dosavadní nevýhody odstraňuje způsob izotachoforetické analýzy se separací vzorků, jehož podstatou je, že analyzovaný vzorek se nejprve rozseparuje v gelu a poté analyzuje ve volném roztoku.

K tomuto způsobu slouží kolona tvořená nejméně jedním separačním kanálem, přecházejícím přes první redukční kanál do vyrovnávacího kanálu a přes druhý redukční kanál do detekčního kanálu.

Hlavní předností způsobu a zařízení podle vynálezu je použití kombinace obou způsobů separace a možnost použití kolon s plochým kanálem o větším průřezu a tím dosažení separace velkých objemů bez zvyšování nároků na čas analýzy nebo zvýšení elektrického napětí při dokonalém a účinném chlazení separačních kanálů i ostatních částí zařízení.

Konkrétní příklad způsobu byl proveden při analýze směsí sestávající z 10^{-6} mol/l l kreatininu v 0,14 mol/l l chloridu sodného se separace prováděla v suspenzi gelu v

tomto případě granulovaném polyakrylamidu v 0,01 mol/l l octanu draselného. Poté se provedla analýza ve volném roztoku 0,01 mol/l l octanu draselného.

Příklad provedení kolony blíže objasní přiložený výkres zařízení, kde na obr. 1 je znázorněno uspořádání kolony v čelním osovém řezu a na obr. 2 v pohledu shora.

Jak patrně z obr. 1 a 2 je kolona zhotovena z bloku 1 ze syntetické pryskyřice ličí technologií, ve kterém je vytvořen separační kanál 2 o rozměrech asi $20 \times 1 \times 100$ milimetrů. Jeho spodní strana je od chladičského bloku 3 oddělena vrstvou pryskyřice o tloušťce 0,2 mm. Separační kanál 2 se zužuje přes první redukční kanál 4 nálevkového tvaru ve vyrovnávací kanál 5 šířky 1 milimetr, který přechází přes druhý redukční kanál 6 do detekčního kanálu 7 kruhového průřezu a vybaveného analytickým detektorem 8. Na začátek separačního kanálu 2 je připojena dávkovací kohoutem 9 elektrodová komora 23. V obou redukčních kanálech 4, 6 jsou uspořádány první a druhý vtokový kohout 10, 11 uzavírající přívod k první a druhé elektrodové komoře 14, 15. Elektrodové komory 14, 15 jsou rozděleny semipermeabilní membránou 20 na elektrodový prostor a tlumicí prostor a jsou opatřeny prvním a druhým napouštěcím kohoutem 16, 17. Těsně před vtokovými kohouty 10, 11 jsou umístěny pomocné detektory 18, 19 a na konci detekčního kanálu 7 třetí elektrodová komora 21 s třetím napouštěcím kohoutem 22.

Způsob analýzy v tomto zařízení probíhá takto: Detekční kanál 7 se naplní volným roztokem vedoucího elektrolytu při naplněném otevřeném napouštěcím kohoutu 22, při otevřeném dávkovacím kohoutu 9 a uzavřených vtokových kohoutech 10, 11. Poté se napouštěcí kohout 22 uzavře. Po otevření vtokového kohoutu 11 a napouštěcího kohoutu 17 se naplní vyrovnávací kanál 5 vedoucím elektrolytem s gelem. Vtokový a napouštěcí kohout 11, 17 se uzavřou. Otevřou se vtokový a napouštěcí kohout 10, 16 a separační kanál 2 se naplní gelem s vedoucím elektrolytem, s výhodou o jiném složení. Vtokový a napouštěcí kohout 10, 16 se uzavřou, elektrodová komora 23 se naplní koncovým elektrolytem, elektrodové komory 14, 15, 21 se naplní odpovídajícími vedoucími elektrolyty. Dávkovací kohout 9 se naplní vzorkem a otočí do polohy, v níž spojuje elektrodovou komoru 23 se separačním kanálem 2. Otevře se vtokový kohout 10 a mezi elektrodové komory 14, 23 se přivede elektrické napětí. Po domigrování vzorku k pomocnému detektoru 18 se odpojí elektrické napětí, uzavře se vtokový kohout 10, otevře se vtokový kohout 11 a k elektrodám elektrodových komor 15, 23 se připojí elektrické napětí.

Po domigrování první zóny k pomocnému detektoru 19 se odpojí elektrické napětí.

tí, uzavře se vtokový kohout 11, k elektrodám elektrodových komor 21, 23 se připojí elektrické napětí. Migrující zóny vzorku

se zaznamenávají analytickým detektorem 8. Po ukončení analýzy se celé zařízení promyje.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob izotachforetické analýzy se separací vzorků, vyznačený tím, že analyzovaný vzorek se nejprve rozseparuje v gelu a poté analyzuje ve volném roztoku.

2. Kolona k provádění způsobu podle bodu 1, vyznačená tím, že je opatřena nejmé-

ně jedním separačním kanálem (2) přecházejícím přes první redukční kanál (4) do vyrovnávacího kanálu (5) a přes druhý redukční kanál (6) do detekčního kanálu (7).

2 listy výkresů

