

MODERNÍ TRENDY V PŘÍPRAVĚ VZORKU PRO ANALÝZU SEPARAČNÍMI TECHNIKAMI



Lucie Nováková
Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové

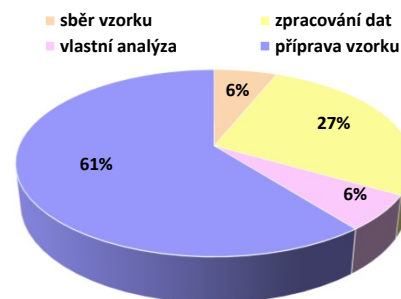
OSNOVA:

- 1) ÚVOD
- 2) KONVENČNÍ METODY PRO PŘÍPRAVU VZORKU
- 3) MODERNÍ METODY PRO PŘÍPRAVU VZORKU
 - 3.1 METODY NA BÁZI SPE
 - 3.2 METODY NA BÁZI LLE
 - 3.3 DALŠÍ PŘÍSTUPY
- 4) PERSPEKTIVY V OBLASTI PŘÍPRAVY VZORKU

(1) ÚVOD

- minimální úprava adekvátní typu a komplexnosti vzorku:
„JUST ENOUGH PRIOR TO ANALYSIS“

- izolace analytů
- přečištění
- odstranění interferencí
- eliminace matricových efektů
- zakoncentrování
- ochrana analytické instrumentace



(1) ÚVOD

- časová náročnost vývoje metody
- časová náročnost metody samotné
- cena analýzy
- počet vzorků
- požadovaná selektivita, zakoncentrování (citlivost metody)
- cíl metody – specifická kvantifikace/obecný screening
- dostupné množství vzorku
- jednoduchost/složitost techniky
- možnost automatizace



- KONVENČNÍ METODY
- MODERNÍ METODY

(1) ÚVOD

FILTRACE

- stříkačkové filtry s membránou



charakteristika:

- průměr (4, 13, 17, 30, 33 mm) → zadržovaný objem
- velikost pórů: obvykle 0,45 μm nebo 0,20 μm/0,22 μm (UHPLC)
- materiál:
 - PTFE (polytetrafluorethylen), hydrofóbní/hydrofilní
 - RC (regenerovaná celuloza), hydrofilní
 - PVDF (polyvinyliden fluorid), hydrofóbní/hydrofilní
 - nylon, hydrofilní
 - PES (polyethersulfon), hydrofóbní
 - CA (acetát celulosy)
 - PP (polypropylen)
 - GF (glass microfiber)



(1) ÚVOD

FILTRACE

- filtrace s využitím centrifugace, speciální vialky s filtry

charakteristika:

- velikost pórů: obvykle 0,45 μm nebo 0,22 μm (UHPLC)
- zadržovaný objem: často < 5 μL
- použitelný objem: 20 – 850 μL
- materiál:
 - nylon, hydrofilní
 - CA (acetát celulosy)
 - PP (polypropylen)
 - PVDF (polyvinyliden fluorid), hydrofóbní/hydrofilní
 - PES (polyethersulfon), hydrofóbní
 - PTFE (polytetrafluorethylen), hydrofóbní/hydrofilní



(1) ÚVOD

FILTRACE

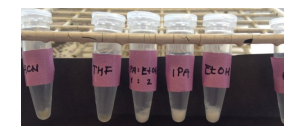
- filtrace pomocí speciálních filtračních vialek
- umístění vzorku do vnější vialky
- vložení pístové části vialky do vnější vialky
- stlačení a filtrace
- vzorek je protlačen membránou nahoru, dojde k separaci částic
- velikost pórů: obvykle 0,45 μm nebo 0,20 μm (UHPLC)
- materiál:
 - PTFE (polytetrafluorethylen)
 - PVDF (polyvinyliden fluorid)
 - nylon, hydrofilní
 - PES (polyethersulfon), hydrofóbní



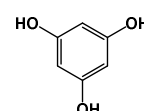
<https://htslabs.com/fv/>

ŘEDĚNÍ

- typ rozpouštědla
 - rozpustnost vzorku
 - kompatibilita s chromatografií



(1) ÚVOD



FLOROGLUCINOL
 MW = 126,0317
 Log P = 0,87
 pKa = 9,66

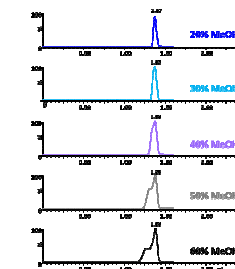
CHROMATOGRAFICKÉ PODMÍNKY:

BEH Shield C18 RP
 (100 x 2,1 mm, 1,7 μm)

gradientová eluce

A: 0,1% HCOOH, B: MeOH
 5% – 95% B během 5 min

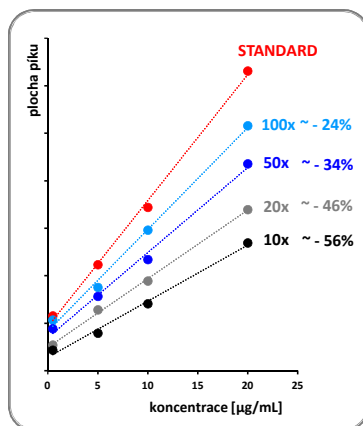
V_{inj} = 5 μL
 V_{col} = 346 μL
 5 μL = 1,45 %



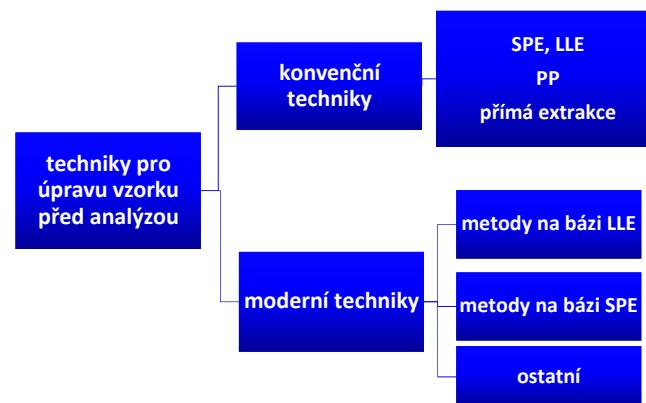
(1) ÚVOD

ŘEDĚNÍ

- typ rozpouštědla
 - rozpustnost vzorku
 - kompatibilita s chromatografií
- ředící faktor
 - limity metody: mez detekce/kvantifikace
 - odstranění/snížení vlivu interferencí
 - matricové efekty



(1) ÚVOD



(2) KONVENČNÍ TECHNIKY PRO ÚPRAVU VZORKU PŘED ANALÝZOU



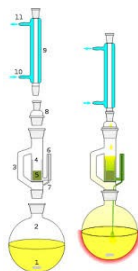
(2) KONVENČNÍ TECHNIKY PRO ÚPRAVU VZORKU PŘED ANALÝZOU



- dobře zavedené, reprodukovatelné
- technické uspořádání pro jejich realizaci je již optimalizované a komerčně dostupné
- nejrozšířenější v rutinní praxi
- zejména v laboratořích s vysokou prostupností vzorků
- vývoj metody a validace obvykle není problematická
- dosažené výsledky splňují požadovaná kritéria v rozumném časovém úseku

(2) PŘÍMÁ EXTRAKCE DO ROZPOUŠTĚDLA

- extrakce analytu z **tuhé matrice** (tablety, topické přípravky, rostlinné matrice, některé potravinové matrice atd.)
- výtěžnost a rychlost extrakce (teplota, tlak)
 - **accelerated solvent extraction (ASE)**
- úprava vzorku před extrakcí (drcení, mletí)
- extrakce na třepačce, Soxlethova extrakce atd.
- nízká selektivita, nedojde k přečištění vzorku



(2) KONVENČNÍ TECHNIKY PRO ÚPRAVU VZORKU PŘED ANALÝZOU

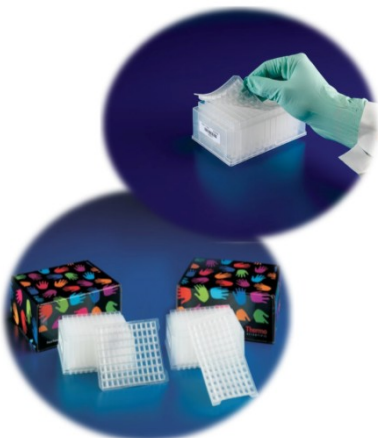
extrakce na tuhou fázi
SOLID PHASE EXTRACTION (SPE)



srážení proteinů
PROTEIN PRECIPITATION (PP)



extrakce z kapaliny do kapaliny
LIQUID-LIQUID EXTRACTION (LLE)



(2) SRÁŽENÍ PROTEINŮ: PROTEIN PRECIPITATION (PP)

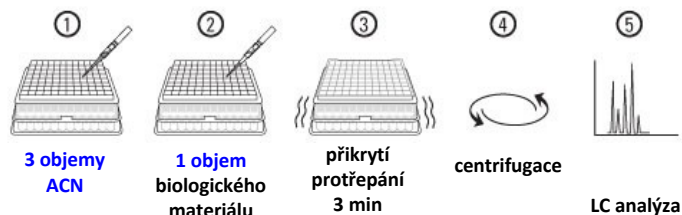
(2) SRÁŽENÍ PROTEINŮ: PROTEIN PRECIPITATION (PP)

- tradiční technika pro úpravu vzorků biologických materiálů
- **nejrychlejší, nejlevnější a nejjednodušší přístup !!!**
- **jak pro vývoj metody, tak pro praktickou aplikaci**
- vhodná pro hydrofilní i pro hydrofobní látky

PROVEDENÍ:

- organická rozpouštědla - **acetonitril**, methanol, ethanol, aceton
- silné kyseliny – TFA, HCOOH, HCl, chloristá
- soli vícemocných iontů – ZnSO₄, Ba(OH)₂
- saturace (NH₄)₂ SO₄

(2) SRÁŽENÍ PROTEINŮ: PROTEIN PRECIPITATION (PP)



- někdy je nutné odpaření rozpouštědla a rekonstituce v MF

➔ zakoncentrování
kompatibilita s LC mobilní fází

<http://www.piercenet.com/browse.cfm?fldID=C5A4DFDA-5056-8A76-4EA5-13BE024C13FC>

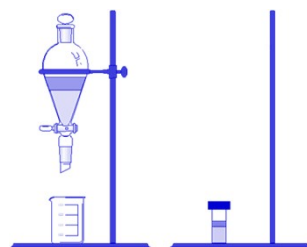
(2) SRÁŽENÍ PROTEINŮ: PROTEIN PRECIPITATION (PP)

výhody:

- rychlost a jednoduchost provedení i vývoje metody
- není třeba speciální instrumentální vybavení
- univerzální přístup – látky s různými fyzikálně chemickými vlastnostmi
- nízká cena

nevýhody:

- nízká selektivita postupu
- výsledkem jsou nečisté extrakty
- u LC-MS často přítomnost **matricových efektů**
- může docházet k vazbě analytu na precipitát



(2) EXTRAKCE Z KAPALINY DO KAPALINY: LIQUID-LIQUID EXTRACTION (LLE)

(2) EXTRAKCE Z KAPALINY DO KAPALINY: LIQUID-LIQUID EXTRACTION (LLE)

- jedna z prvních extrakčních technik, též tradiční

PRINCIP:

- extrakce analytu z vodného roztoku vzorku do rozpouštědla nemísitelného s vodou (diethylether, ethylacetát nebo hexan)
- základem jsou fyzikálně-chemické vlastnosti látek
- rozdělovací **koeficient oktanol/voda**
- je-li analyt rozpustný v jedné fázi a balastní látky v druhé (málokdy☺)

EXTRAKCE Z KAPALINY DO KAPALINY: LLE



(2) EXTRAKCE Z KAPALINY DO KAPALINY: LIQUID-LIQUID EXTRACTION (LLE)

výhody:

- „jednoduchost“
- nenáročnost na provedení a na složitost vybavení
- odstranění matricových efektů při LC-MS - soli nebo fosfolipidy extrahovány nejsou

nevýhody:

- tvorba emulzí
- vysoká spotřeba organických rozpouštědel v případě extrakce ve velkých objemech
- polární látky – obtížnější, SALLE (salting-out LLE)
- relativně časově náročná, vícekroková procedura
- nutnost odpaření rozpouštědla a znovu-rozpuštění



(2) EXTRAKCE NA TUHOU FÁZI: SOLID PHASE EXTRACTION (SPE)

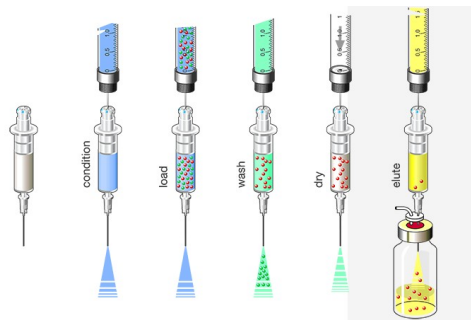
(2) EXTRAKCE NA TUHOU FÁZI: SOLID PHASE EXTRACTION (SPE)

- nejpoužívanější technika v analytických laboratořích všech zaměření

DŮVODY:

- možnost **zakoncentrování a přečištění extraktu**
- lepší **selektivita** v závislosti na použité SPE kolonce
- dobrá výtěžnost
- nižší spotřeba rozpouštědel
- automatizace

(2) EXTRAKCE NA TUHOU FÁZI: SOLID PHASE EXTRACTION (SPE)



PRINCIP: rozdělování analytu mezi kapalnou fází (vzorek) a tuhou fází (SPE kolonka)

www.gerstel.com

(2) EXTRAKCE NA TUHOU FÁZI: SOLID PHASE EXTRACTION (SPE)

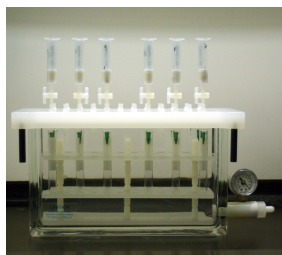
KLÍČOVÝ JE VÝBĚR SORBENTU:

- selektivita, afinita a kapacita
- fyzikálně chemické vlastnosti vzorku x typ matrice

TYPY SORBENTŮ:

- silikagel chemicky modifikovaný ligandy RP (C8, C18 atd.)
- porézní grafitový uhlík
- iontově-výměnné fáze
- polymerní sorbenty
- **vícemodální (mixed-mode) sorbenty**
- imunosorbenty + MIPs

(2) EXTRAKCE NA TUHOU FÁZI: SOLID PHASE EXTRACTION (SPE)



(2) EXTRAKCE NA TUHOU FÁZI: SOLID PHASE EXTRACTION (SPE)

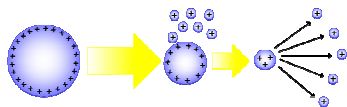
výhody:

- možnost **zakoncentrování a přečištění extraktu**
- **selektivita** – široké množství dostupných sorbentů v
- různé formáty (platíčka, kolonky, disky)
- dobrá výtěžnost
- nižší spotřeba rozpouštědel
- automatizace

nevýhody:

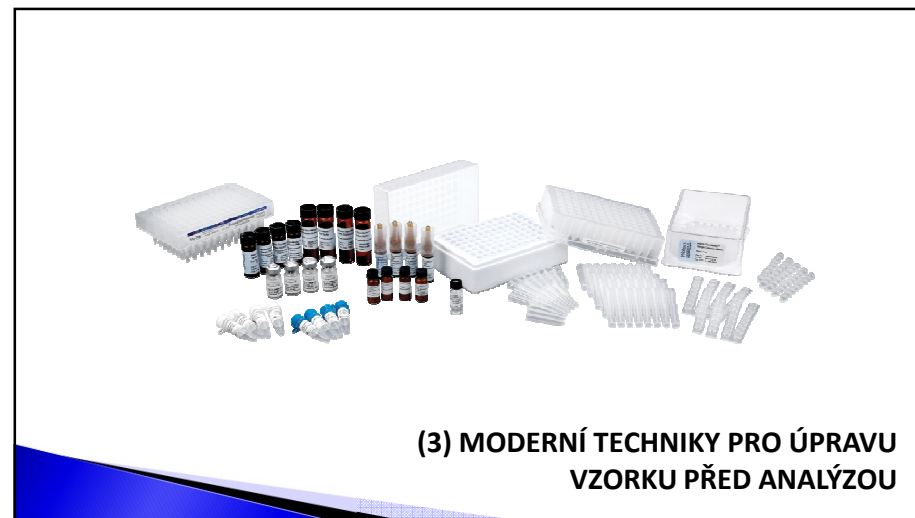
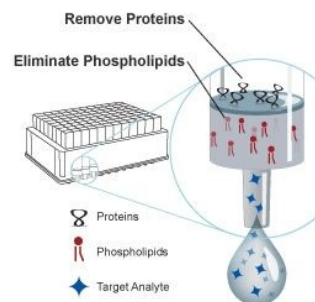
- relativně časově náročná, víceokrová procedura
- nutnost instrumentálního vybavení
- cenově náročnější (SPE kolonky na jedno použití)
- reprodukovatelnost výroby kolonek mezi šaržemi
- maticové efekty

AUTOMATIZACE KONVENČNÍCH EXTRAKČNÍCH POSTUPŮ



matricové efekty v LC-MS

- kombinovaná platička:
- PP
- odstranění fosfolipidů



(3) MODERNÍ TECHNIKY PRO ÚPRAVU VZORKU PŘED ANALÝZOU

(3) MODERNÍ TECHNIKY PRO ÚPRAVU VZORKU PŘED ANALÝZOU



- zkrácení času pro přípravu vzorku
- snížení spotřeby rozpouštědel
- snížení spotřeby samotného vzorku
- zvýšení selektivity extrakčního procesu
- snížení počtu kroků extrakčního procesu
- možnost automatizace

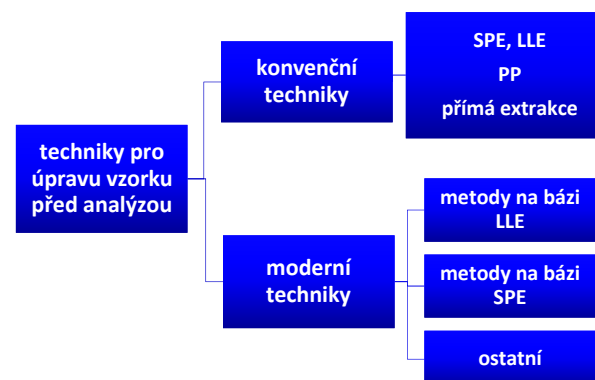


- minimalizace vzniku chyb
- vysoká prostupnost vzorků
- nízká cena
- zelená chemie



L. Nováková, H. Vlčková, Anal. Chim. Acta 656 (2009) 8.
L. Nováková, LCGC Europe, Supplement, 2016, vol. 29, s. 10.

(3) MODERNÍ TECHNIKY PRO ÚPRAVU VZORKU PŘED ANALÝZOU

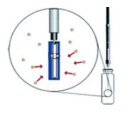


3.1 METODY NA BÁZI LLE

LLE s využitím inertního nosiče
supported liquid extraction
SLE



extrakce v kapalně fázi
pomocí dutého vlákna
HF-LPME



disperzní mikroextrakce z
kapaliny do kapaliny
DLLME



LLE s využitím membrány
PALME
SLM



extrakce do jediné kapky
rozpuštědla
SDME

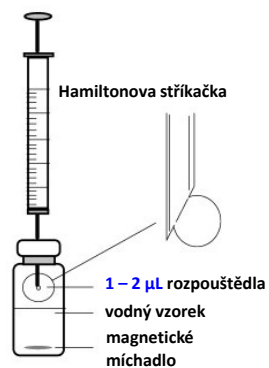


LLE s využitím inertního nosiče
supported liquid extraction
SLE



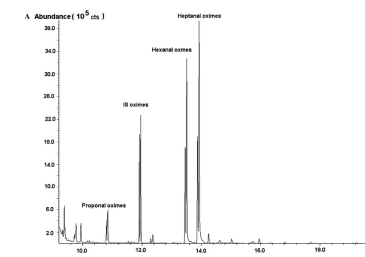
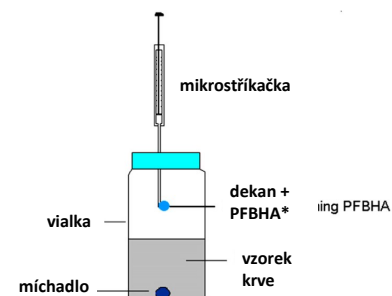
EXTRAKCE DO JEDINÉ KAPKY ROZPUŠTĚDLA
SINGLE DROP MICROEXTRACTION - SDME

- stejně jako LLE – extrakce do organického rozpouštědla nemísitelného s vodou
- různá uspořádání (DI, HS, CF)
- kapalné vzorky
- nepolární a málo polární analyty
- následuje většinou GC
- prakticky nulová spotřeba rozpouštědel – nízká cena
- velké prekoncentrační faktory
- dlouhý extrakční čas
- stabilita kapky
- náročnost manipulace



A. Jain, K. K. Verma, Anal. Chim. Acta 706 (2011) 37.

EXTRAKCE DO JEDINÉ KAPKY ROZPUŠTĚDLA
SINGLE DROP MICROEXTRACTION - SDME



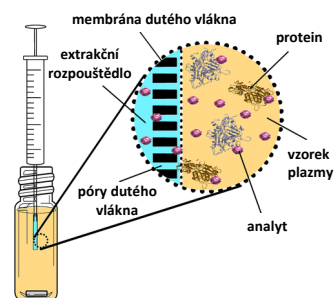
- rakovinné markery hexanal a heptanal
- HS-SDME extrakce a derivatizace v jednom kroku + GC-MS/MS

*O-2,3,4,5,6-(pentafluorbenzyl)hydroxylamin

N. Li et al., Anal. Biochem. 342 (2005) 318.

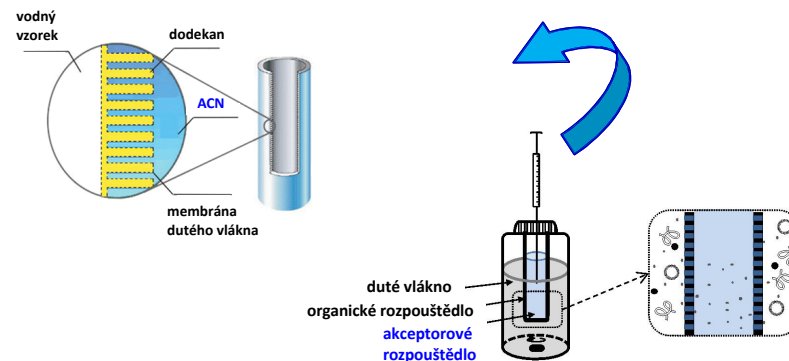
EXTRAKCE V KAPALNÉ FÁZI POMOCÍ DUTÉHO VLÁKNA HOLLOW-FIBRE LIQUID PHASE MICROEXTRACTION: HF-LPME

- hydrofobní porézní duté vlákno obsahuje imobilizované rozpouštědlo pro extrakci v pórech stěny vlákna
- akceptorové rozpouštědlo uvnitř vlákna může být organické nebo vodné (2 - 3 F)
- prakticky nulová spotřeba rozpouštědel – nízká cena
- velké prekoncentrační faktory
- náročnost manipulace
- možnost kontaminace vlákna



M. Saraji et al., *Microchim. Acta* 174 (2011) 159.

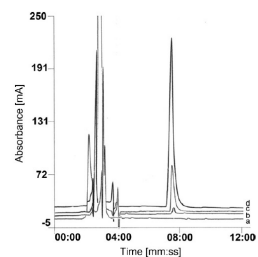
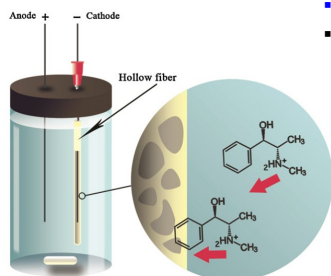
EXTRAKCE V KAPALNÉ FÁZI POMOCÍ DUTÉHO VLÁKNA HOLLOW-FIBRE LIQUID PHASE MICROEXTRACTION: HF-LPME



J. A. Rodríguez et al., *Agric. Biol. Sci.*, 2013

EXTRAKCE V KAPALNÉ FÁZI POMOCÍ DUTÉHO VLÁKNA HOLLOW-FIBRE LIQUID PHASE MICROEXTRACTION: HF-LPME

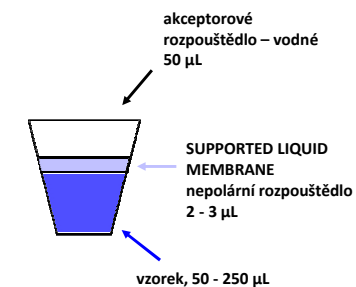
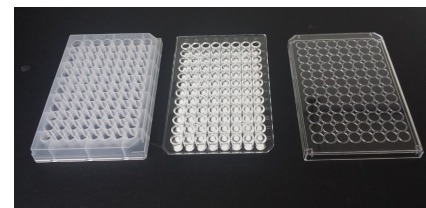
- EME – electromembrane extraction
- aplikace potenciálu urychlí extrakci
- koncentrační faktor 51x (plazma) a 120 x (moč)
- koncentrační faktor 8x (plazma) a 35x (moč)



L. Fotouhi et al., *J. Chromatogr. A* 1218 (2013) 8581.

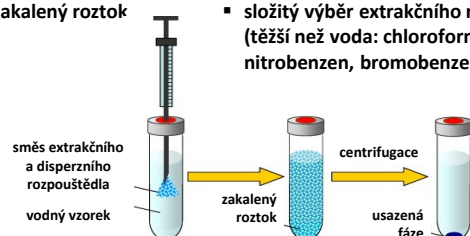
EXTRAKCE V KAPALNÉ FÁZI POMOCÍ UMĚLÝCH MEMBRÁN PARALEL ARTIFICIAL LIQUID MEMBRANE EXTRACTION: PALME

- membránová extrakce LLE
- snadná automatizace
- 3 fázový systém
- minimální spotřeba rozpouštědel i vzorku
- není třeba krok odpaření



DISPERZNÍ MIKROEXTRAKCE Z KAPALINY DO KAPALINY DISPERSIVE LIQUID-LIQUID MICROEXTRACTION - DLLME

- **extrakční rozpouštědlo**
- **disperzní rozpouštědlo (MeOH, EtOH, aceton...)**
- společně přidány k vodnému vzorku
- **rychlost, jednoduchost**
- prakticky nulová spotřeba rozpouštědel – nízká cena
- **velké prekoncentrační faktory**
- po protřepání vznikne zakalený roztok
- centrifugace
- usazení extrakční fáze
- odběr extrakční fáze
- složitý výběr extrakčního rozpouštědla (těžší než voda: chloroform, nitrobenzen, bromobenzen atd.)



3.2 METODY NA BÁZI SPE

mikroextrakce pomocí plněného tuhého sorbentu
MEPS



mikroextrakce pomocí plněných špiček pipet
μ-SPE-PT



disperzní SPE
d-SPE
QuEChERS



mikroextrakce na tuhou fázi
SPME



sorpční extrakce míchadlem
SBSE



materiály s omezeným přístupem - **RAM**



imunoafinitní
SPE



molekulárně vtištěné
polymery - **MIPs**
molekulárně vtištěný
silikagel - **MIS**



magnetická
SPE



3.2 METODY NA BÁZI SPE KLASICKÁ SPE

mikroextrakce pomocí plněného
tuhého sorbentu
MEPS



mikroextrakce pomocí plněných
špiček pipet
μ-SPE-PT

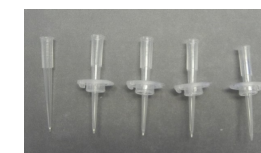
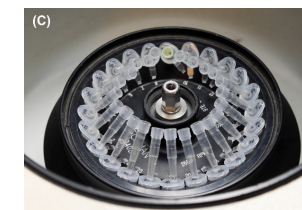
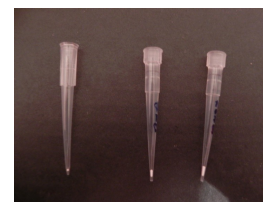


- jednoduchá miniaturizace SPE
- 1 – 4 mg sorbentu, SPE
- extrakce pohybem pístu
- manuálně, semi-, automaticky
- časová nenáročnost (minuty)
- redukce objemu vzorku i rozpouštědel
- **několikanásobné použití sorbentu**
- jednoduchost



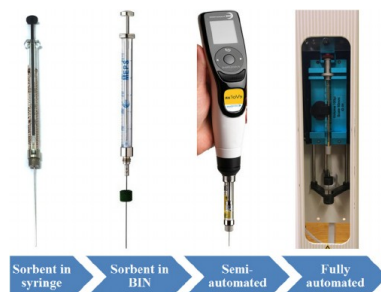
- jednoduchá miniaturizace SPE
- SPE disky – lab-made, komerční
- 0,4 mg sorbentu/1 disk
- 3 disky = 1 vrstva ~ 1,2 mg
- extrakce pohyb pístu **pipety** nebo **centrifugací**
- časová nenáročnost (minuty)
- redukce objemu vzorku i rozpouštědel
- **vysoká prostupnost vzorků**
- jednoduchost

3.2 MIKROEXTRAKCE NA BÁZI SPE μ-SPE-PT



L. Nováková, LCGC Europe, Supplement, 2016, vol. 29, s. 10.

MIKROEXTRAKCE POMOCÍ PLNĚNÉHO TUHÉHO SORBENTU MICROEXTRACTION BY PACKED SORBENT - MEPS

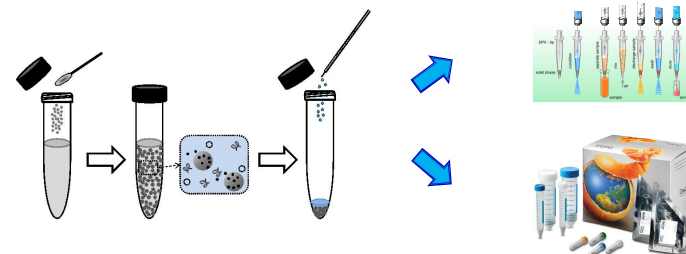


NEVÝHODY

- tvorba bublin
- pro on-line spojení s LC je třeba dedikované instrumentace
- rychlost pohybu pístu má klíčový vliv na výtěžnost

3.2 METODY NA BÁZI SPE DISPERZNÍ SPE

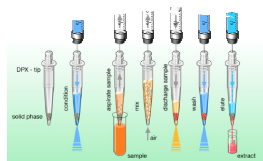
- ke vzorku se přidá přímo sorbent SPE, který se používá k plnění kolonek SPE
- účinnost extrakce je vyšší – lepší kontakt analytu se sorbentem



- centrifugace
- poté extrakce analytů pomocí vhodného organického rozpouštědla

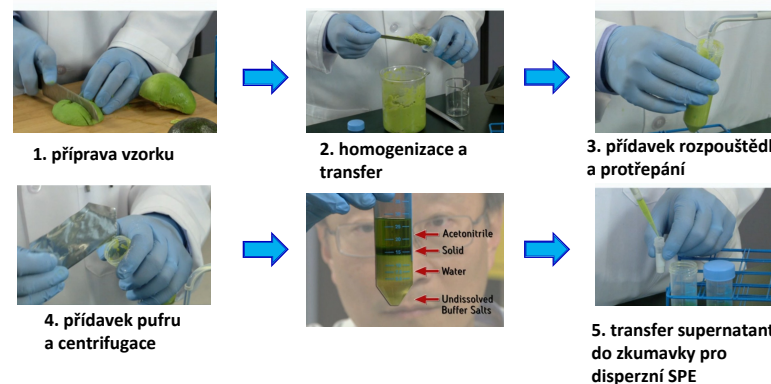
3.2 MIKROEXTRAKCE POMOCÍ PLNĚNÝCH ŠPIČEK PIPET DISPOSABLE PIPETTE TIPS EXTRACTION - DPX

- miniaturizace konvenční SPE
- disperzní typ extrakce
- sorbent je uložen volně mezi dvěma fritami ve špičce pipety – **zvýšení účinnosti extrakce** díky opakovanému kontaktu analytu s extrakční fází
- extrakce pomocí pístu pipety
- sorbenty C18, PS-DVB, SAX, WAX, PGC
- redukce objemu vzorku a rozpouštědla
- jednoduchost, dobrá opakovatelnost



3.2 QuEChERS

Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe



www.waters.com

3.2 QuEChERS

Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe



6. centrifugace

7. odebrání extraktu a analýza

Analytes
Excess Sorbent




www.waters.com

3.2 METODY NA BÁZI SPE


SORPCE/DESORPCE

mikroextrakce na tuhou fázi SPME




- speciální stříkačka
- vlákno pokryté polymerem
- extrakce probíhá **sorpce**
- ab⁻ (PDMS)/ad⁻ (carboxen)
- uvolnění analytů **desorpce**
- **bezrozpouštědlová extrakce**
- + zakoncentrování, derivatizace
- HS-GC - automatizace
- **dlouhá doba ustalování**
- křehkost, omezená kapacita
- dedikované vybavení

sorpční extrakce míchadlem SBSE

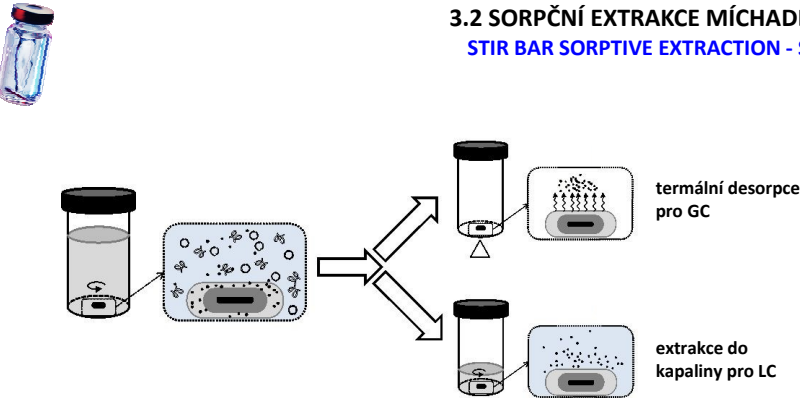


- extrakční fáze na míchadle
- 50 – 250x více než SPME vlákno
- extrakce probíhá **absorpce**, míchání
- uvolnění analytů termální **desorpce**
- či **desorpce do kapaliny**
- (bezrozpouštědlová extrakce)
- + zakoncentrování, derivatizace
- **velmi dlouhá doba ustalování**
- pouze nepolární analyty
- nedostatek extrakčních fází



3.2 SORPČNÍ EXTRAKCE MÍCHADLEM

STIR BAR SORPTIVE EXTRACTION - SBSE



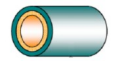
termální desorpce pro GC

extrakce do kapaliny pro LC

J. A. Rodriguez et al., Agric. Biol. Sci., 2013

3.2 KAPILÁRNÍ SPME

IN-TUBE SOLID PHASE MICROEXTRACTION: IN-TUBE SPME



kapilární SPME (in-tube SPME)

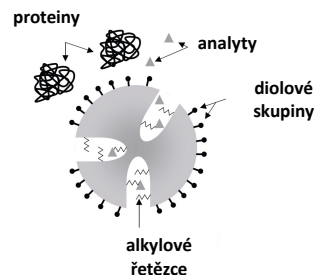
- místo PDMS vlákna využívá pro extrakci silikagelovou kapiláru (prázdnou, naplněnou, krátké GC kolony)
- umístění místo dávkovací smyčky
- vzorek je opakovaně nasáván
- analyty jsou desorbovány přímo mobilní fází
- snazší spojení s chromatografickými technikami
- **bezrozpouštědlová extrakce**
- **významné zakoncentrování** – environmentální analýza
- vyšší citlivost analýzy
- automatizace
- nutnost specifické instrumentace nedostupné komerčně
- časově náročné při opakovaném nasávání vzorku
- ucpávání kapiláry, obtížné připojení k UHPLC

3.2 METODY NA BÁZI SPE SELEKTIVITA PRO MALÉ MOLEKULY AUTOMATIZACE

materiály s omezeným
přístupem - RAM



- RESTRICTED ACCES MATERIALS
- přímé dávkování biologických vzorků
- 2D chromatografie!!!
- místa pro interakci uvnitř pórů
- pouze pro malé molekuly
- retence na základě interakcí dle typu sorbentu



3.2 METODY NA BÁZI SPE VYSOKÁ SELEKTIVITA

molekulárně vtištěné polymery
MIPs



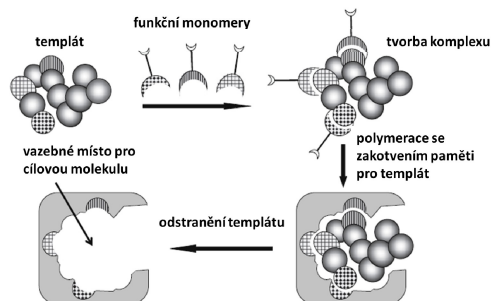
- selektivní sorbenty pro SPE
- extrakce určité látky nebo skupiny strukturních analogů
- stérická a chemická paměť pro templát použitý při jejich výrobě
- komerčně dostupné pouze některé sorbenty
- nespecifická vazebnost
- kapacita

imunoafinitní SPE
IA-SPE



- selektivní sorbenty pro SPE
- imobilizace specifické protilátky
- vysoká specifická protilátek v kombinaci
- složitější příprava
- dostupnost protilátek
- křížové reakce příbuzných analytů

3.2 MOLEKULÁRNĚ VTIŠTĚNÉ POLYMERY MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS - MIPs



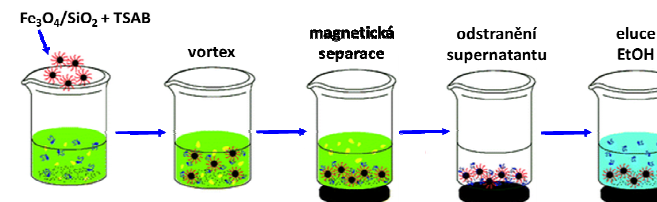
- komerční dostupnost sorbentů jen pro určité aplikace
nesteroidních antiřlogistika, nitroimidazoly, fluorochinolony, amfetamin, klenbuterol, beta-blokátory, beta-agonisté, chloramfenikol, riboflavin

magnetická
SPE



3.2 METODY NA BÁZI SPE

- selektivita
- výtěžnost
- zakoncentrování
- jednoduchost
- flexibilita modifikace
- opakované použití
- omezeně komerčně dostupné
- nanočástice
- nanotrubičky
- MOF
- MIP

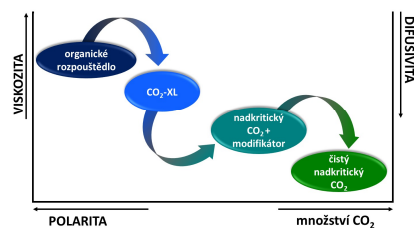


TSAB = trimethylstearylammionium bromid

F. Maya et al. Trends Anal. Chem. 90 (2017) 142.

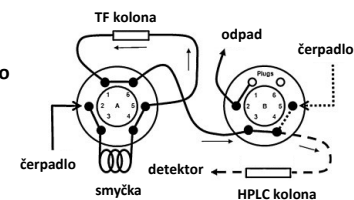
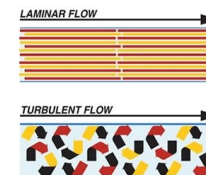
3.3 PŘÍMÁ EXTRAKCE DO ROZPOUŠTĚDLA SUPEKRITICKÁ FLUIDNÍ EXTRAKCE

- extrakce analytu z **tuhé matrice**
tablety, rostlinné matrice, některé potravinové matrice atd.
- extrakce superkritickým CO₂
- získání jednotlivých frakcí programováním tlaku a teploty
- možnost úpravy polariry pomocí organických rozpouštědel
- koncentrované extrakty



3.3 CHROMATOGRÁFIE S TURBULENTNÍM PRŮTOKEM TURBULENT FLOW CHROMATOGRAPHY - TFC

- separace malých molekul od makromolekulárních látek na základě **difúzních koeficientů**
- turbulentní průtok = zvýšení převodu hmoty
- krátké kolony s velkými částicemi (50 x 1,0 mm, 20 - 60 μm)
- vysoké průtoky: 4 - 5 ml/min
- vyšší citlivost analýzy – analýza celkového extraktu
- nutnost specifické instrumentace
- životnost extrakční kolony



(4) PERSPEKTIVY V OBLASTI PŘÍPRAVY VZORKU

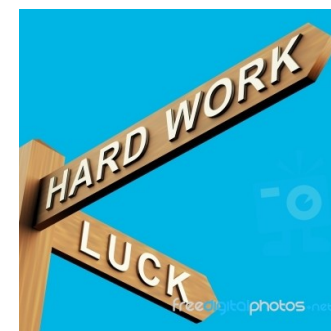
PŘÍPRAVA VZORKU K ANALÝZE SNADNO A RYCHLE?



SNADNO A RYCHLE:

pouze precipitace proteinů
za cenu nízké selektivity

nebo on-line techniky
za cenu složitější optimalizace a dedikované
instrumentace



moderní techniky poskytují mnohé výhody, ale často jsou náročné na instrumentální vybavení, zručnost analytika a na vývoj metody

PERSPEKTIVY V OBLASTI PŘÍPRAVY VZORKU

- **nedostatek metod s vysokou selektivitou**
- **vývoj nových typů selektivních materiálů, zdokonalování postupů výroby MIPs**
- **kombinace technik MEPS/MIPs nebo RAM/MIPs**

- **příprava vzorku je navzdory moderním trendům stále *nejpomalejším krokem analýzy***
- **jednodušší procedury – menší riziko vzniku chyb**

- **automatizace**
- **komerční dostupnost některých uspořádání**

- **metody disperzní SPE, magnetické SPE**

