

MODERNÍ TRENDY V PŘÍPRAVĚ VZORKU K ANALÝZE S VYUŽITÍM INSTRUMENTÁLNÍCH TECHNIK

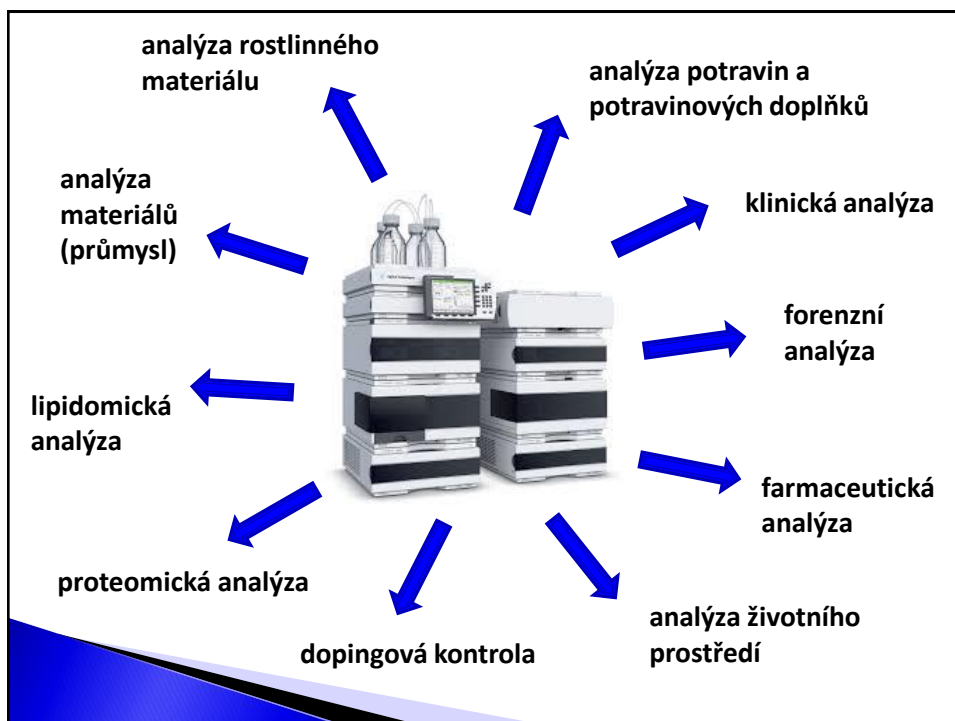


Lucie Nováková
Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové

OUTLINE:

- 1) VÝBĚR METODY PRO PŘÍPRAVU VZORKU
- 2) STABILITA VZORKU
- 3) KONVENČNÍ METODY PRO PŘÍPRAVU VZORKU
- 4) MODERNÍ METODY PRO PŘÍPRAVU VZORKU
- 5) PERSPEKTIVY V OBLASTI PŘÍPRAVY VZORKU

VÝBĚR METODY PRO PŘÍPRAVU VZORKU



VÝBĚR METODY PRO PŘÍPRAVU VZORKU

- minimální úprava adekvátní typu a komplexnosti vzorku:
„JUST ENOUGH PRIOR TO ANALYSIS“
- u jednoduchých vzorků postačuje **filtrace** či **ředění**
- **dokonalá rozpustnost vzorku v mobilní fázi!**
- náročná procedura/více kroků ~ větší zatížení chybou
- ověření předběžných podmínek separace s reálným vzorkem dříve, než je provedena důkladná optimalizace!

VÝBĚR METODY PRO PŘÍPRAVU VZORKU

JEDNODUCHÉ VZORKY

- **filtrace** stříkačkové filtry
0,45 μm nebo 0,22 μm (UHPLC)
PTFE, nylon, celuloza...



- **ředění**
- **centrifugace**
- **přímá extrakce do rozpouštědla**

VÝBĚR METODY PRO PŘÍPRAVU VZORKU

SLOŽITĚJŠÍ VZORKY

- časová náročnost vývoje metody
- časová náročnost metody samotné
- cena analýzy
- počet vzorků

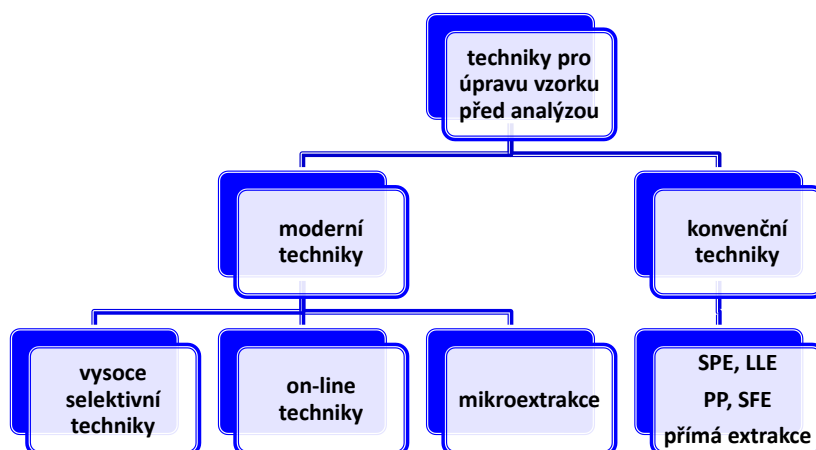
- požadovaná selektivita, zakoncentrování (citlivost metody)
- cíl metody – specifická kvantifikace/obecný screening
- dostupné množství vzorku
- jednoduchost/složitost techniky
- možnost automatizace



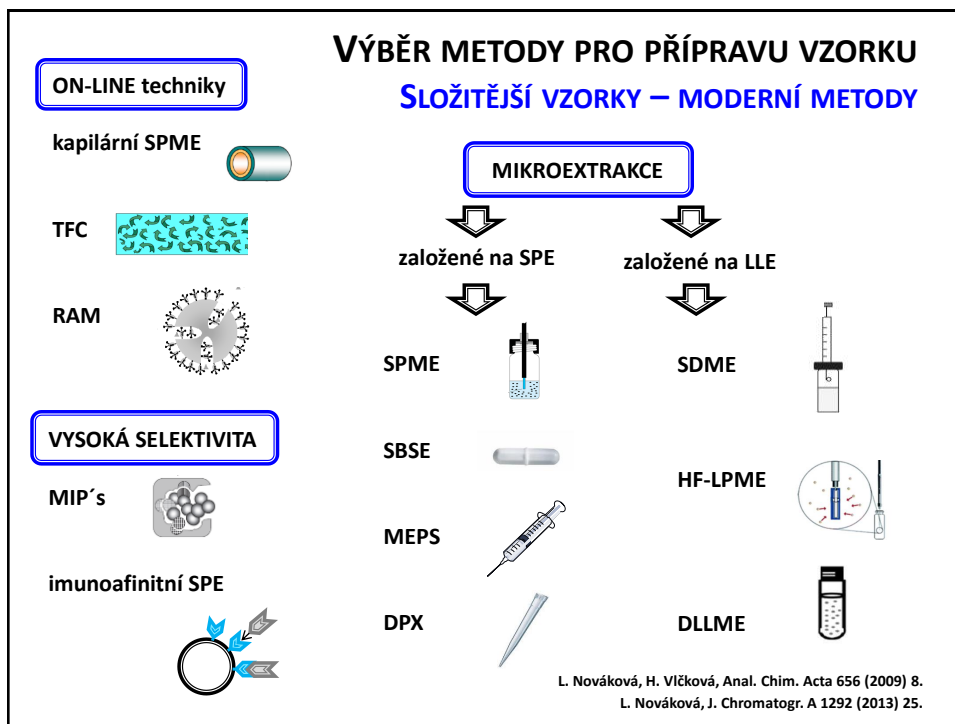
- KONVENČNÍ METODY
- MODERNÍ METODY

VÝBĚR METODY PRO PŘÍPRAVU VZORKU

SLOŽITĚJŠÍ VZORKY – MODERNÍ METODY



L. Nováková, H. Vlčková, Anal. Chim. Acta 656 (2009) 8.
L. Nováková, J. Chromatogr. A 1292 (2013) 25.

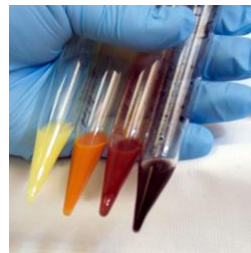


STABILITA VZORKU

STABILITA VZORKU

FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ STABILITU:

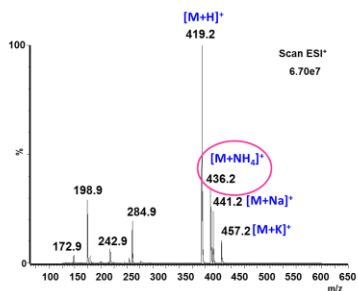
- teplota
- UV záření
- pH
- přítomnost kyslíku
- přítomnost těžkých kovů



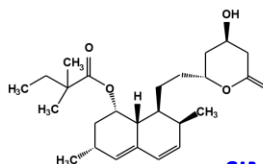
nestabilní látky:



- hydroxykyselina/lakton
- thiol/disulfid
- acylglukuronidy
- látky s oxidačně-redukčními vlastnostmi
- chelatující látky

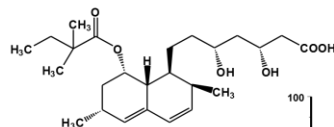


MW = 418,27



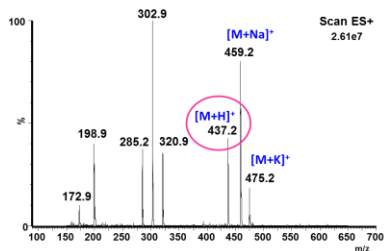
SIMVASTATIN

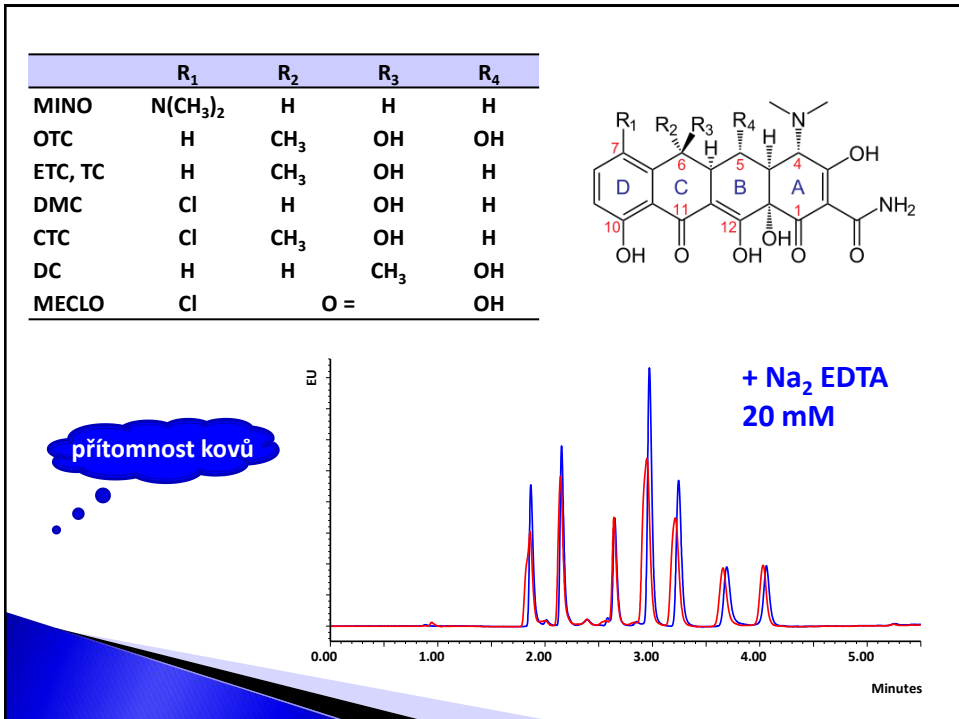
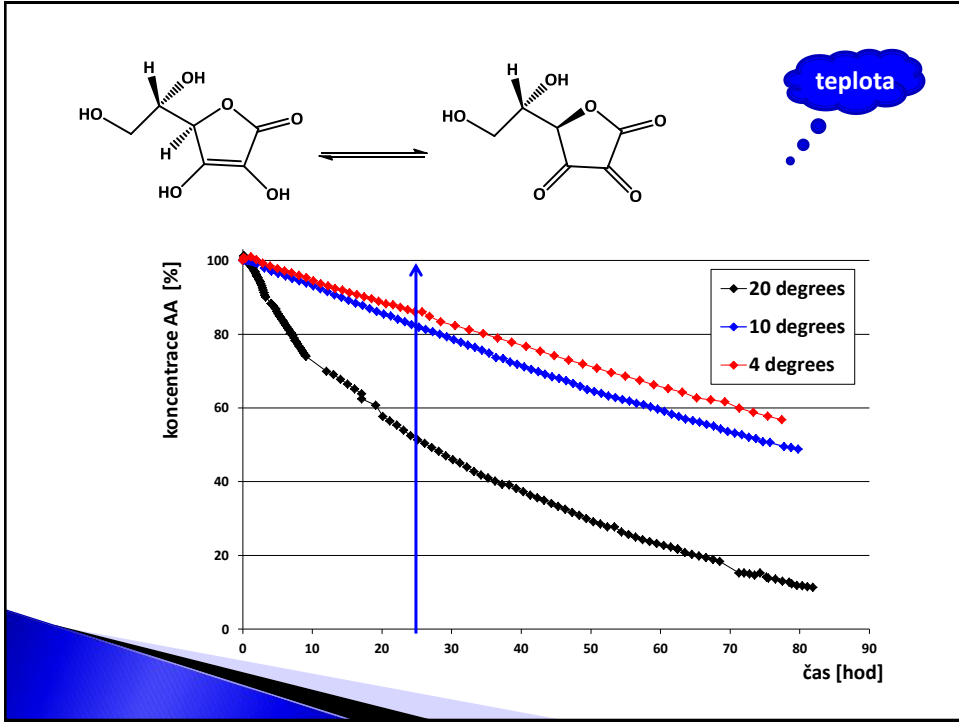
pH



MW = 436,28

SIMVASTATIN KYSELINA



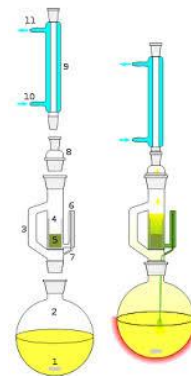




KONVENČNÍ TECHNIKY PRO ÚPRAVU VZORKU PŘED ANALÝZOU

PŘÍMÁ EXTRAKCE DO ROZPOUŠTĚDLA

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



KONVENČNÍ TECHNIKY PRO ÚPRAVU VZORKU PŘED ANALÝZOU

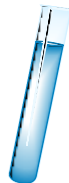
extrakce na tuhou fázi

SOLID PHASE EXTRACTION (SPE)



srážení proteinů

PROTEIN PRECIPITATION (PP)



extrakce z kapaliny do kapaliny

LIQUID-LIQUID EXTRACTION (LLE)

KONVENČNÍ TECHNIKY PRO ÚPRAVU VZORKU PŘED ANALÝZOU



- nejrozšířenější v rutinní praxi
- zejména v laboratořích s vysokou prostupností vzorků



- dobře zavedené, reprodukovatelné
- technické uspořádání pro jejich realizaci je již optimalizované a komerčně dostupné
- snadno automatizovatelné



- vývoj metody a validace obvykle není problematická
- dosažené výsledky splňují požadovaná kritéria v rozumném časovém úseku



SRÁŽENÍ PROTEINŮ PP

SRÁŽENÍ PROTEINŮ - 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 – $ZnSO_4$, $Ba(OH)_2$
- saturace $(NH_4)_2 SO_4$

SRÁŽENÍ PROTEINŮ - PP



- někdy je nutné odpaření rozpouštědla a rekonstrukce v MF



zakoncentrování
kompatibilita s LC mobilní fází

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

SRÁŽENÍ PROTEINŮ - PP

výhody:

- rychlost a jednoduchost provedení i vývoje metody
- není třeba speciální instrumentální vybavení
- nízká cena

nevýhody:

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





EXTRAKCE Z KAPALINY DO KAPALINY - 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



EXTRAKCE Z KAPALINY DO KAPALINY - LLE

výhody:

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

nevýhody:

- tvorba emulzí
- relativně vysoká spotřeba organických rozpouštědel
- nepoužitelná pro polární látky
- relativně časově náročná, vícezkroková procedura
- nutnost odpaření rozpouštědla a znovu-rozpuštění



EXTRAKCE NA TUHOU FÁZI SPE

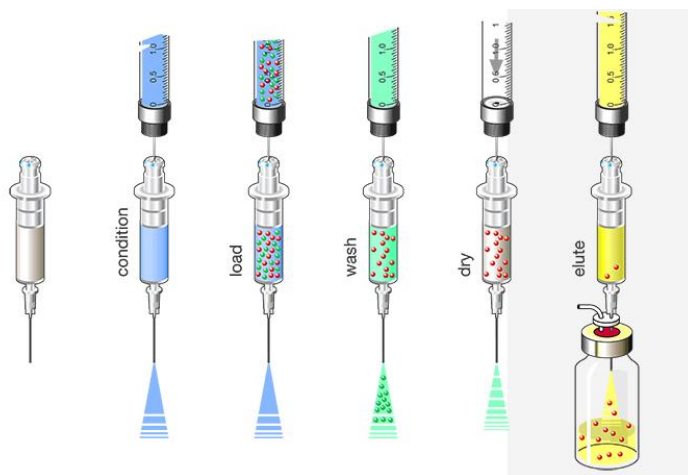
EXTRAKCE NA TUHOU FÁZI - SPE

- **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**

EXTRAKCE NA TUHOU FÁZI - SPE



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

www.gerstel.com

EXTRAKCE NA TUHOU FÁZI - 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.)
- PGC
- iontově-výměnné fáze
- polymerní sorbenty
- **vícemodální sorbenty**
- imunosorbenty + MIPs

**výhody:****EXTRAKCE NA TUHOU FÁZI - SPE**

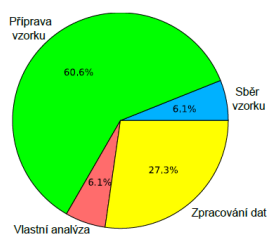
- možnost **zakoncentrování a přečištění extraktu**
- **selektivita** – široké množství dostupných sorbentů v různých formátech (platíčka, kolonky, disky)
- **dobrá výtěžnost**
- **nižší spotřeba rozpouštědel**
- **automatizace**

nevýhody:

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

MODERNÍ TECHNIKY PRO ÚPRAVU VZORKU PŘED ANALÝZOU

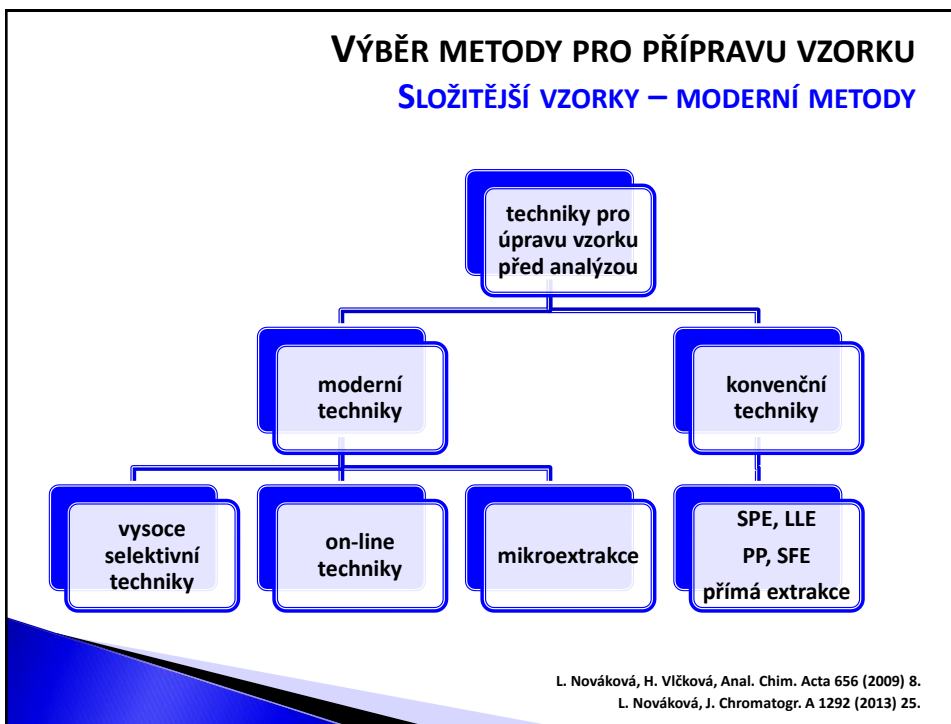
MODERNÍ TECHNIKY PRO ÚPRAVU VZORKU PŘED ANALÝZOU



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



VÝBĚR METODY PRO PŘÍPRAVU VZORKU SLOŽITĚJŠÍ VZORKY – MODERNÍ METODY



MIKROEXTRAKCE

založené na SPE

SPME



SBSE



MEPS



DPX



založené na LLE

SDME



HF-LPME



DLLME

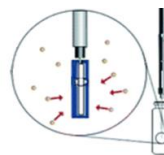


MIKROEXTRAKCE ZALOŽENÉ NA LLE



extrakce do jediné kapky
rozpuštědla
SDME

extrakce v kapalně fázi
pomocí dutého vlákna
HF-LPME

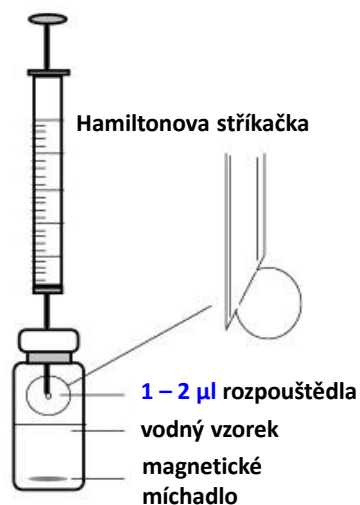


disperzní mikroextrakce
z kapaliny do kapaliny
DLLME



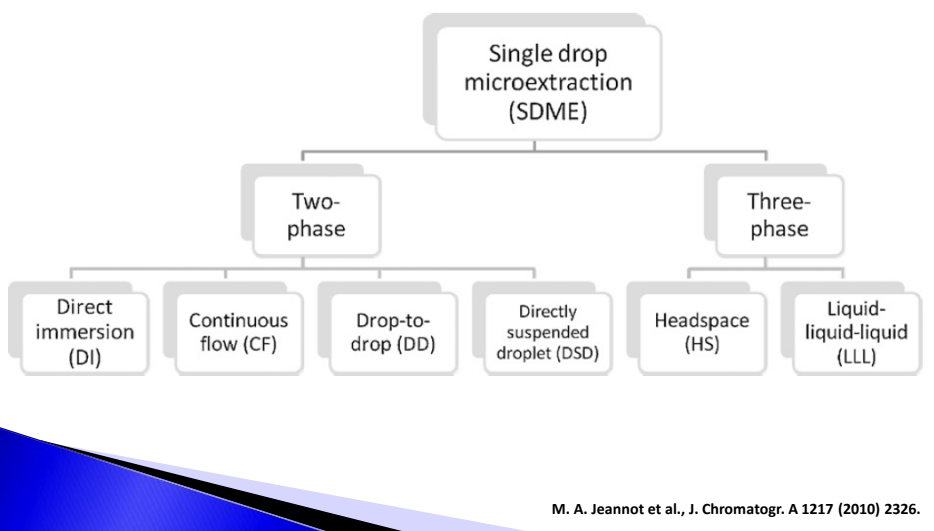
EXTRAKCE DO JEDINÉ KAPKY ROZPOUŠTĚDLA SINGLE DROP MICROEXTRACTION - SDME

- stejně jako LLE – extrakce do organického rozpouštědla nemísitelného s vodou
- různá uspořádání (DI, HS, CF)
- kapalně 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

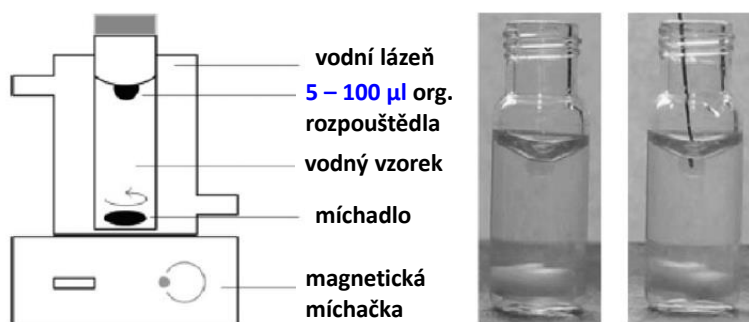


A. Jain, K. K. Verma, Anal. Chim. Acta 706 (2011) 37.

EXTRAKCE DO JEDINÉ KAPKY ROZPOUŠTĚDLA VARIANTY SDME




EXTRAKCE DO JEDINÉ KAPKY ROZPOUŠTĚDLA DIRECTLY SUSPENDED DROPLET MICROEXTRACTION



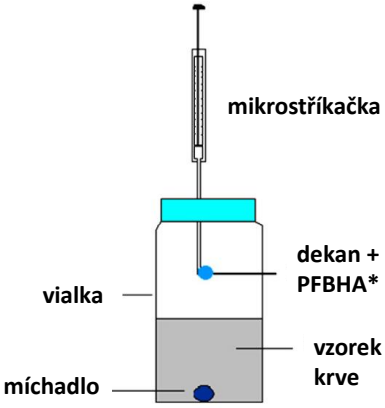
- odběr mikrostříkačkou – GC nebo HPLC analýza
- prakticky nulová spotřeba rozpouštědel – nízká cena
- velké prekoncentrační faktory

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



EXTRAKCE DO JEDINÉ KAPKY ROZPOUŠTĚDLA

SINGLE DROP MICROEXTRACTION - SDME



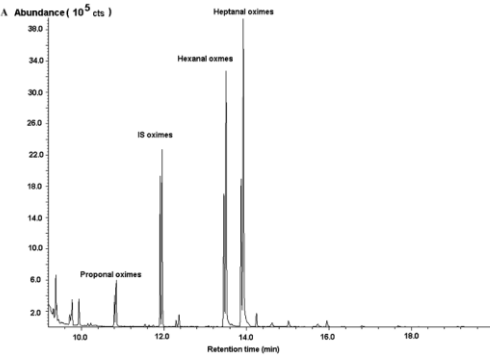
mikrostríkačka

dekan + PFBHA*

vzorek krve

vialka

míchadlo



Abundance (10⁵ cts)

Retention time (min)

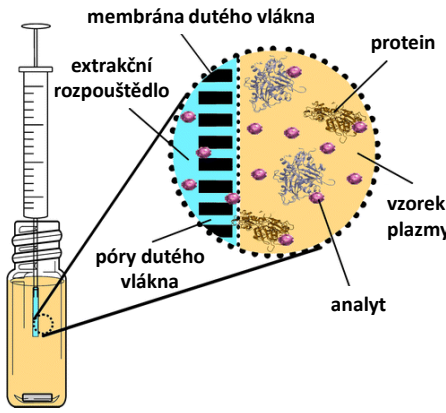
- rakovinné markery hexanal a heptanal
- HS-SDME extrakce a derivatizace v jednom kroku + GC-MS/MS

*O-2,3,4,5,6-(pentfluorobenzyl)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



membrána dutého vlákna

extrakční rozpouštědlo

protein

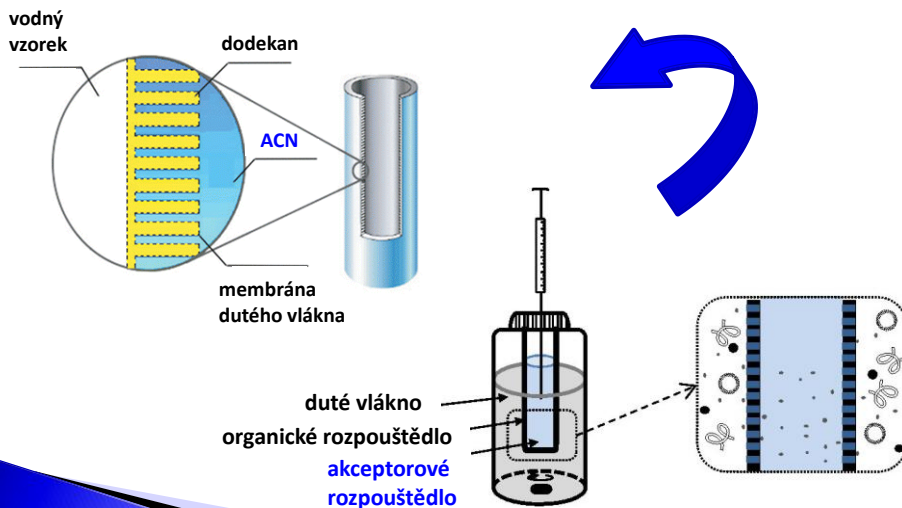
vzorek plazmy

póry dutého vlákna

analyt

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

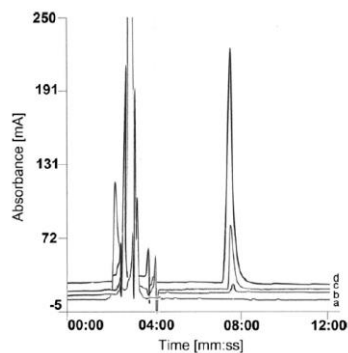
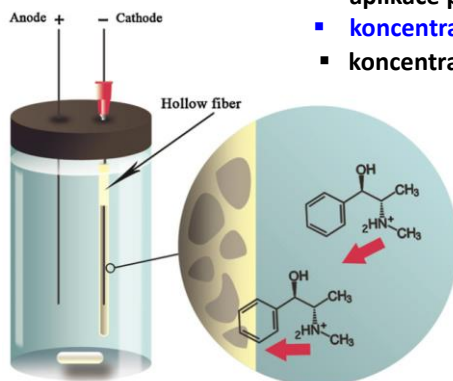
EXTRAKCE V KAPALNÉ FÁZI POMOCÍ DUTÉHO VLÁKNA HOLLOW-FIBRE LIQUID PHASE MICROEXTRACTION: HF-LPME



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

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

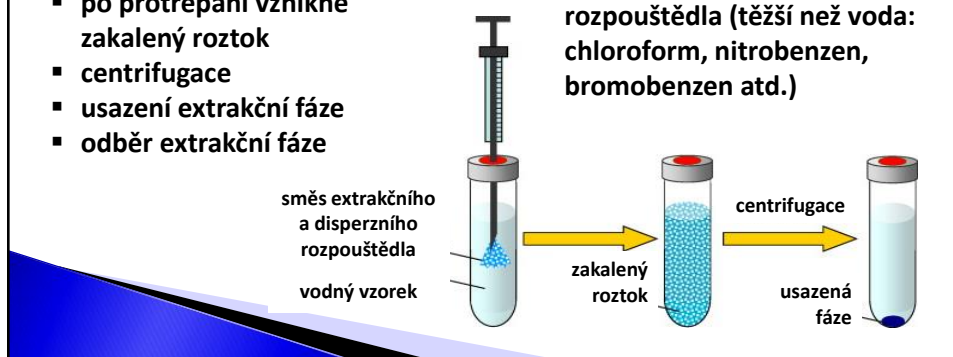
- EME – electromembrane extraction
- aplikace potenciálu urychlí extrakci
- koncentrační faktor 51x (plazma) a 120 x (moč)
- koncentrační faktor 8x (plazma) a 35x (moč)



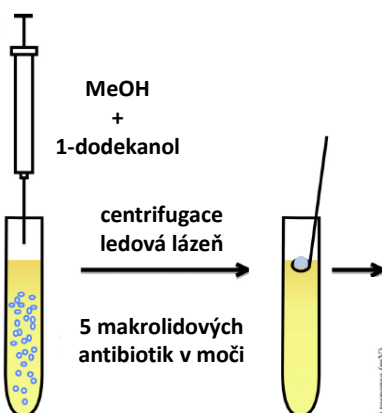
L. Fotouhi et al., J. Chromatogr. A 1218 (2013) 8581.

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

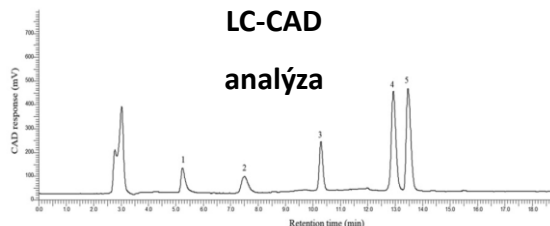
- **extrakční rozpouštědlo**
- **disperzní rozpouštědlo (MeOH, EtOH, aceton...)**
- **společně přidány k vodnému vzorku**
- **po protřepání vznikne zakalený roztok**
- **centrifugace**
- **usazení extrakční fáze**
- **odběr extrakční fáze**
- **rychlost, jednoduchost**
- **prakticky nulová spotřeba rozpouštědel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



DISPERZNÍ MIKROEXTRAKCE Z KAPALINY DO KAPALINY DISPERSIVE LIQUID-LIQUID MICROEXTRACTION – SOLIDIFICATION OF FLOATING ORGANIC DROPLETS - DLLME-SFO



- **extrakční + disperzní rozpouštědlo společně přidány k vodnému vzorku**
- **protřepání + centrifugace + usazení extrakční fáze**
- **odběr extrakční fáze – HPLC analýza**



S. Jia et al., J. Pharm. Biomed. Anal. 86 (2013) 204.

MIKROEXTRAKCE ZALOŽENÉ NA SPE

mikroextrakce na
tuhou fázi
SPME



sorpční extrakce
míchadlem
SBSE

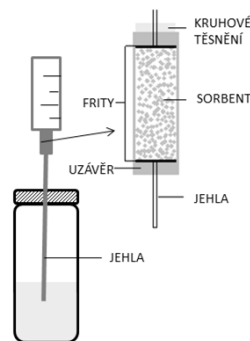


mikroextrakce pomocí
plněných špiček pipet
DPX

mikroextrakce
pomocí plněného
tuhého sorbentu
MEPS

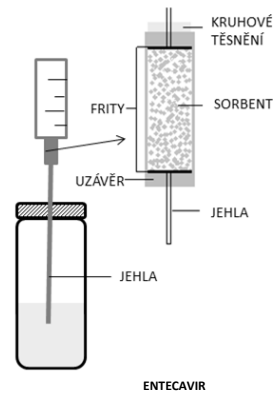
MIKROEXTRAKCE POMOCÍ PLNĚNÉHO TUHÉHO SORBENTU MICROEXTRACTION BY PACKED SORBENT - MEPS

- jednoduchá miniaturizace konvenční SPE
= jednoduchý přenos metod
- 1 – 4 mg sorbentu (fáze C8, C18, PGC, C2 a SCX), 100 nebo 250 μ l stříkačka
- extrakce pohybem pístu manuálně,
poloautomaticky nebo automatizovaně
- časová nenáročnost (minuty)
- redukce objemu vzorku a rozpouštědel
- několikanásobné použití sorbentu
- jednoduchost

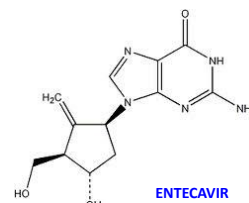
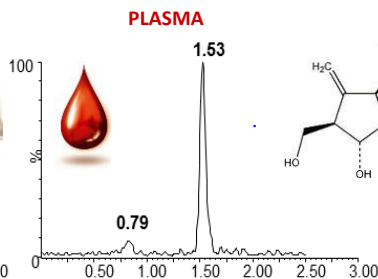
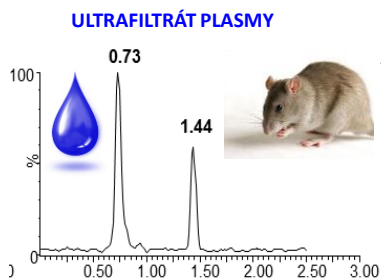
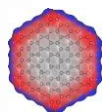


MIKROEXTRAKCE POMOCÍ PLNĚNÉHO TUHÉHO SORBENTU MICROEXTRACTION BY PACKED SORBENT - MEPS

- jednoduchá miniaturizace konvenční SPE
= jednoduchý přenos metod
- 1 – 4 mg sorbentu (fáze C8, C18, PGC, C2 a M1), 100 nebo 250 μ l stříkačka
- extrakce pohybem pístu manuálně, polouautomaticky nebo automatizovaně
- tvorba bublin
- spojení není možné s každým LC
- rychlost pohybu pístu má klíčový vliv na výtěžnost

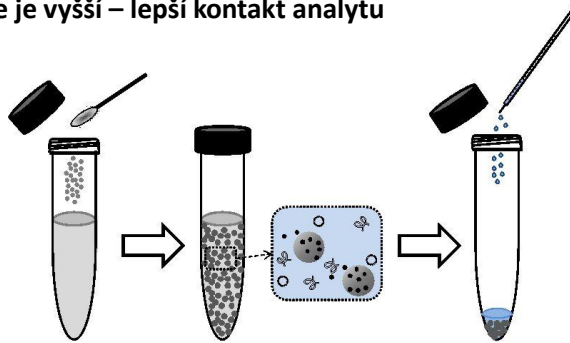


MIKROEXTRAKCE POMOCÍ PLNĚNÉHO TUHÉHO SORBENTU MICROEXTRACTION BY PACKED SORBENT - MEPS



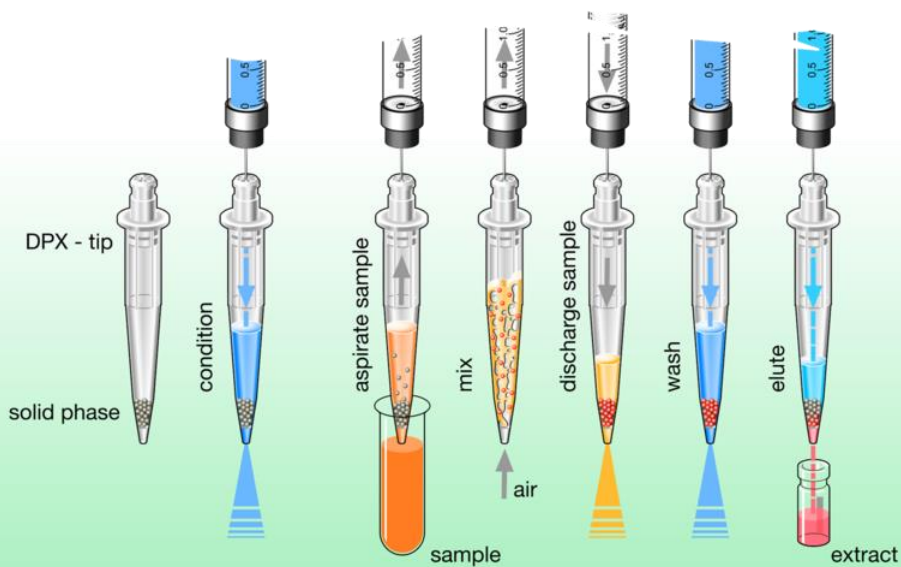
MIKROEXTRAKCE NA BÁZI SPE DISPERZNÍ SPE

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



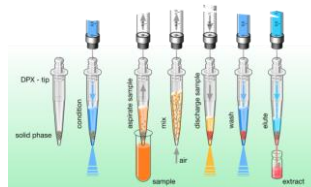
- centrifugace
- poté extrakce analytů pomocí vhodného organického rozpouštědla

MIKROEXTRAKCE POMOCÍ PLNĚNÝCH ŠPIČEK PIPET DISPOSABLE PIPETTE TIPS EXTRACTION - DPX



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 rozpouštědel
- jednoduchost, dobrá opakovatelnost



QuEChERS

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



1. příprava vzorku



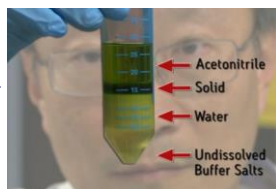
2. homogenizace a transfer



3. přidavek rozpouštědla a protřepání



4. přidavek pufru a centrifugace



5. transfer supernatantu do zkumavky pro disperzní SPE

www.waters.com

QuEChERS

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



6. centrifugace





7. odebrání extraktu a analýza

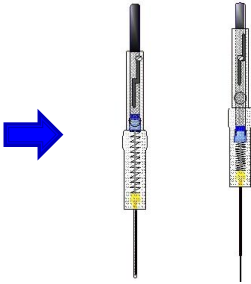


www.waters.com

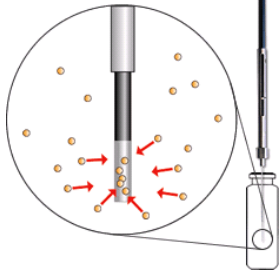
MIKROEXTRAKCE NA TUHOU FÁZI

SOLID PHASE MICROEXTRACTION - SPME

- speciální stříkačka
- obsahuje silikagelové vlákno pokryté polymerem, často PDMS
- extrakce probíhá **sorpce** na vysunutě vlákno, uvolnění analytů pak **desorpce**
- může jít o absorpci (PDMS) i adsorpci (carboxen), dle typu použitého materiálu



- extrakce, zakoncentrování, derivatizace
- HS-GC - automatizace
- **bezropouštědlová extrakce**



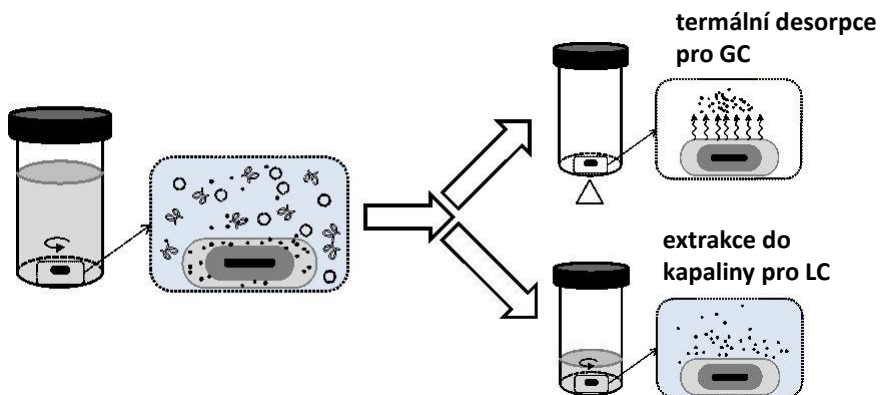
- křehkost vlákna
- omezená kapacita vlákna
- dedikované vybavení
- **dlouhá doba ustalování** rovnováhy při absorpci i při desorpce

SORPČNÍ EXTRAKCE MÍCHADLEM STIR BAR SORPTIVE EXTRACTION - SBSE

- extrakční fáze je umístěna na míchadle, často PDMS
- 50 – 250x více než SPME vlákno
- extrakce probíhá **absorpcí** za stálého míchání
- uvolnění analytů pak termální **desorpce** či **desorpce do kapaliny**
- extrakce, zakoncentrování, derivatizace
- **bezropouštědlová extrakce**
- **velmi dlouhá doba ustalování** rovnováhy při adsorpci i při desorpci (100vky minut!)
- pouze nepolární analyty
- nedostatek extrakčních fází



SORPČNÍ EXTRAKCE MÍCHADLEM STIR BAR SORPTIVE EXTRACTION - SBSE

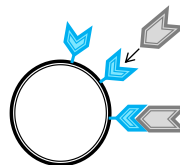


J. A. Rodriguez et al., Agric. Biol. Sci., 2013

VYSOKÁ SELEKTIVITA EXTRAKCE



molekulárně vtištěné polymery
MIPs
molekulárně vtištěný silikagel
MIS



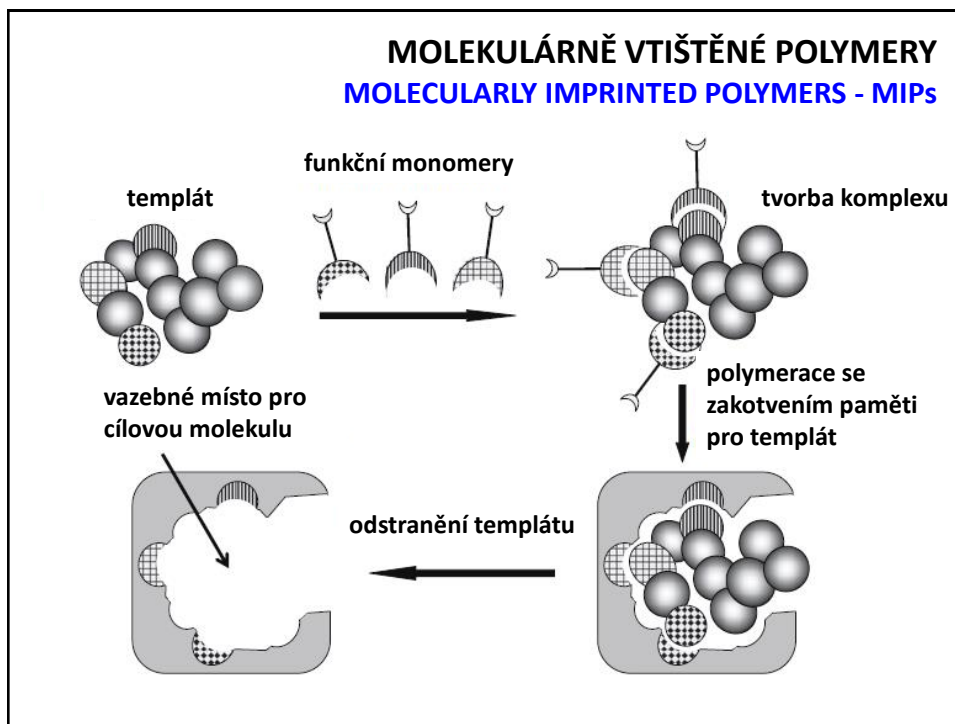
imunoafinitní
SPE

MOLEKULÁRNĚ VTIŠTĚNÉ POLYMERY MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS - MIPs

- **selektivní sorbenty pro SPE** předurčené pro analýzu určité látky nebo skupiny strukturních analogů
- mají **sterickou a chemickou paměť** pro templát použitý při jejich výrobě

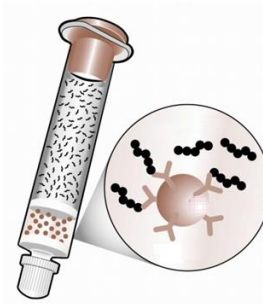
NEVÝHODY:

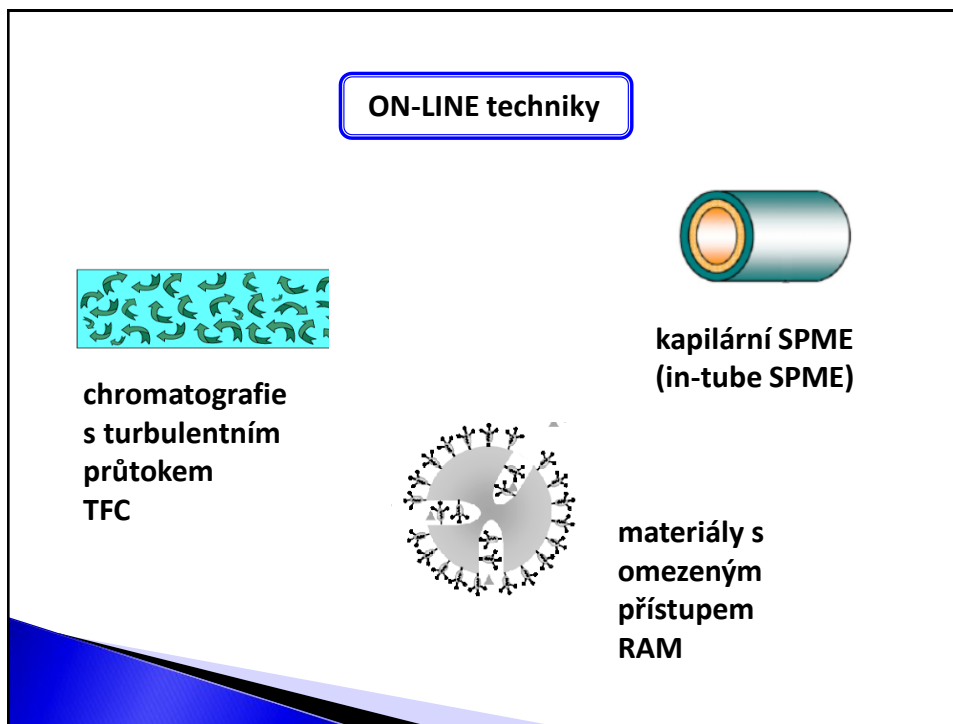
- slabá výtěžnost výrobních postupů – nedostatek vazebných míst
- nízká kapacita
- nespecifická vazebnost
- komerční dostupnost sorbentů jen pro určité aplikace
nesteroidních antiflogistika, nitroimidazoly, fluorochinolony, amfetamin, klenbuterol, beta-blokátory, beta-agonisté, chloramfenikol, riboflavin



IMUNOAFINITNÍ SPE IMMUNOAFFINITY SOLID PHASE EXTRACTION: IA-SPE

- selektivní varianta klasické SPE
- na povrch SPE sorbentu, je imobilizována **specifická protilátka**
- vysoká specifita protilátek v kombinaci s následnou separací chromatografickými metodami - separace strukturně příbuzných analytů, které by mohly poskytovat křížové reakce
- křížové reakce lze naopak někdy využívat pro izolaci celé skupiny strukturně příbuzných analytů

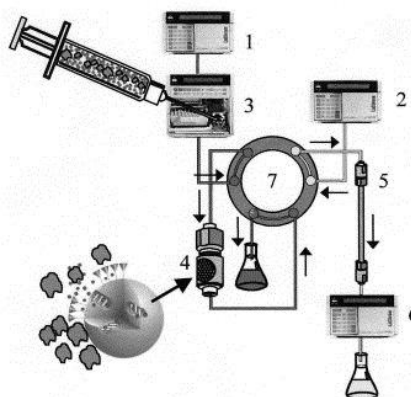
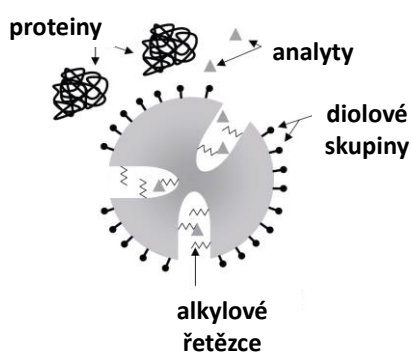




MATERIÁLY S OMEZENÝM PŘÍSTUPEM RESTRICTED ACCES MATERIALS - RAM

- materiály, které dovolují přímé dávkování biologických vzorků
- **místa pro interakci uvnitř pórů** jsou přístupná pouze pro **malé molekuly** – dochází k retenci na základě interakcí dle typu sorbentu
- makromolekuly pak mohou interagovat pouze s vnějším povrchem materiálu částic – nedochází k adsorpci a k retenci
- mohou být vyloučeny buď:
 - **fyzikální bariérou** díky průměru pórů a hydrofilním ligandům
 - nebo **chemickou difúzní bariérou** tvořenou proteinovou nebo polymerovou sítí na vnějším povrchu částice

MATERIÁLY S OMEZENÝM PŘÍSTUPEM RESTRICTED ACCESS MATERIALS - RAM



zapojení pomocí techniky
přepínání kolon

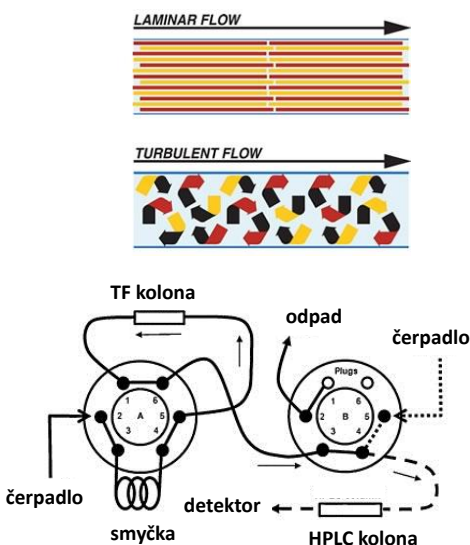
KAPILÁRNÍ SPME

IN-TUBE SOLID PHASE MICROEXTRACTION: IN-TUBE SPME

- místo PDMS vlákna využívá pro extrakci silikagelovu 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

CHROMATOGRAFIE S TURBULENTNÍM PRŮTOKEM TURBULENT FLOW CHROMATOGRAPHY - TFC

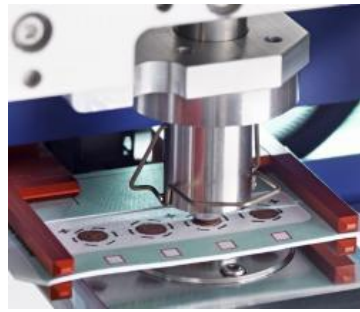
- separace malých molekul od makromolekulárních látek na základě difúzních koeficientů
- turbulentní průtok = zvýšení převodu hmoty
- krátké kolony s velkými částicemi (50 x 1,0 mm, 20 - 60 μm)
- vysoké průtoky: 4 – 5 ml/min
- vyšší citlivost analýzy – analýza celkového extraktu
- nutnost specifické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



SUCHÉ KREVŇÍ KAPKY DRIED BLOOD SPOTS



- odběr kapilární krve z prstu nebo paty na speciální filtrační papír
- vysušení na vzduchu
- vystřížení disku
- extrakce disku
- LC-MS analýza
- neinvazivní odběr a malý objem vzorku
- uchovávání a transport
- **novorozenecký screening**
- fenylketonurie, hyperfenylalaninémie a mnohé další metabolické poruchy



SUCHÉ KREVŇÍ KAPKY
DRIED BLOOD SPOTS

PERSPEKTIVY V OBLASTI
PŘÍPRAVY VZORKU

SROVNÁNÍ JEDNOTLIVÝCH METOD

Technika	Doba extrakce [min]	Selektivita	Mnohakový proces	Možnost automatizace	Spotřeba rozpouštědel
KONVENČNÍ TECHNIKY ÚPRAVY VZORKU					
LLE	15 – 25	střední	ano	+	velmi vysoká
SPE	15 – 25	střední	ano	+	relativně vysoká
PP	< 10	nízká	NE (centrifugace)	+	vysoká
MODERNÍ TECHNIKY ÚPRAVY VZORKU: MIKROEXTRAKCE					
LLME	5 – 60	střední	absorpce/desorpce	-	velmi nízká
SPME	10 – 60	střední	sorpce/desorpce	+	NE
SBSE	30 - 240	střední	sorpce/desorpce	-	NE
MEPS	1 - 10	střední	ano	+	velmi nízká
DPX-SPE	15 - 20	střední	ano	+	velmi nízká
MODERNÍ TECHNIKY ÚPRAVY VZORKU: ON-LINE TECHNIKY					
RAM	< 5	střední	ano	+	NE
TFC	< 5	střední	ano	+	NE
kapilární SPME	20-30	střední	ano	+	NE
MODERNÍ TECHNIKY ÚPRAVY VZORKU: VYSOKÁ SELEKTIVITA					
MIP	15 – 20	vysoká	ano	+	relativně vysoká

L. Nováková, H. Vlčková, Anal. Chim. Acta 656 (2009) 8.

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 a MIS
- 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**

DĚKUJI ZA POZORNOST



www.ceskachromatografickaskola.cz