

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2010-954**
(22) Přihlášeno: **21.12.2010**
(40) Zveřejněno: **04.07.2012**
(Věstník č. 27/2012)
(47) Uděleno: **13.06.2013**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **24.07.2013**
(Věstník č. 30/2013)

(11) Číslo dokumentu:

303 976

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

G01N 27/403 (2006.01)
G01N 27/416 (2006.01)
G01N 35/08 (2006.01)
G01N 35/10 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

WO 9901769 A.; WO 0031528 A.; EP 0193251 A.; CZ 287676 A.; US 6887429 B.; US 2008317627 A.; CN 101776574 A.,

(73) Majitel patentu:

Masarykova univerzita, Brno, CZ
Vysoké učení technické v Brně, Brno, CZ

(72) Původce:

Lacina Karel Mgr., Brno Jehnice, CZ
Skládal Petr Doc. RNDr. CSc., Brno Jundrov, CZ
Vondál Jiří Ing., Brno, CZ

(74) Zástupce:

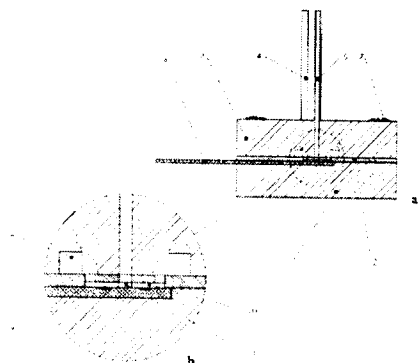
RNDr. Kateřina Hartvichová, Na Bělidle 3, Praha 5,
15000

(54) Název vynálezu:

**Zařízení rozdělující tok tekutiny do více kanálů
a jeho použití**

(57) Anotace:

Řešení se týká zařízení schopného rovnoměrně rozdělit tok tekutiny do více kanálů, zejména pro účely průtokové analýzy a průtokové injekční analýzy na více detekčních prvcích. Uvedené zařízení obsahuje hlavní přívodní kanál (5), který je přímo rozdělen na alespoň dva kanálky (10), přičemž všechny kanálky (10) mají stejný průřez, stejný tvar a stejnou délku, a každý kanálek (10) vede alespoň k jednomu detekčnímu prvku (9) a detekční prvky (9) ve všech kanálcích (10) ovlivňují tok kapaliny shodně, přičemž na odtoku kapaliny z detekčních prvků (9) je zařazena sběrná komora (8), přičemž rychlost proudění v kanálcích (10) je alespoň dvakrát větší než je rychlost proudění ve sběrné komoře (8).



CZ 303976 B6

Zařízení rozdělující tok tekutiny do více kanálů a jeho použití

Oblast techniky

5 Vynález se týká zařízení schopného rovnoměrně rozdělit tok tekutiny do více kanálů, zejména pro účely průtokové analýzy a průtokové injekční analýzy na více detekčních prvcích.

10 Stav techniky

Metoda průtokové injekční analýzy (flow injection analysis, FIA) je elegantním měřicím přístupem, kdy do toku inertního nosiče (též nazývaný mobilní fáze či nosný pufr) nesoucí reagensii je vstříknuta zóna vzorku. Tato zóna může být během měření ještě přirozeně promíchána s další 15 kontinuálně proudící reagensií. Další variantou této techniky je průtoková analýza (flow analysis, FA), kdy systémem protékají střídavě zóny inertního nosiče a vzorku. Detektor umístěný v tomto systému průběžně sleduje tok mobilní fáze. Získaným údajem u techniky FIA je charakteristický průběh signálu označovaný jako pík (v první části roste do maxima, ve druhé 20 části klesá zpět na původní hodnotu danou signálem pufru; alternativně může být i obrácený pík ve formě minima), u prosté průtočné analýzy se pak střídají úrovně signálu odpovídající pozadí v pufru a odezvě na analyzované složky vzorku. Obě techniky mohou být dále modifikovány způsobem, kdy v inertním průběžně tekoucím nosiči daná reagensie přítomna není, ale kontaktní plocha detektoru s roztokem je určitým způsobem modifikována na způsob chemického senzoru nebo biosenzoru. Vzorek pak s touto vrstvou specificky interaguje a detektorem je následně tato 25 interakce zaznamenána.

Výše popsané metody se nejčastěji používají v jednobanálním uspořádání, kdy je použit jediný detekční prvek (například elektroda). Z takto sestaveného systému lze nejčastěji získat jedinou 30 informaci. Pokud je informací charakterizujících zkoumaný roztok potřeba více, je nutné měřit daný roztok vícekrát či pozměnit metodu tak, aby bylo zahrnuto více detekčních prvků. Zde ale vyvstává problém rovnoměrného dělení toku zkoumaného roztoku.

Možné řešení pro duální elektrodový systém představili Kurita a spol., kdy do toku kapaliny 35 v kanálku vložili fluidní prvek, který svým tvarem zajišťoval rovnoměrnou distribuci mezi obě pracovní elektrody (Kurita, Hayashi, Horiuchi, Niawa, Maeyama, Tanizawa, Lab Chip 2 (2002) 34). Tento jednoduchý a tím pádem robustní systém by však byl jen těžko aplikovatelný pro dělení toku k více než dvěma elektrodám.

Uchida a spol. představili multielektrodový systém ve formě šestnácti sériově řazených páskových 40 mikroelektrod vložených souběžně (paralelně) s proudem tekoucí kapaliny (Aoki, Matsue, Uchida, Anal Chem 64 (1992) 44; Kasai, Matsue, Uchida, Electroanalysis 8 (1996) 748). Zmíněné řešení odstraňuje nevýhody jako je např. vzájemné ovlivňování jednotlivých detekčních prvků (tzv. cross-talk), avšak realizace, zejména výroba a charakterizace definovaných mikroelektrod, je velice náročná s přihlédnutím k obtížné modifikaci povrchů, která s sebou nese nutné 45 použití náročných technik či speciálních přístrojů. DeAbreu a spol. vytvořili multielektrodový systém, který čítal až 32 páskových mikroelektrod. Pro obvyklá amperometrická měření je tato zcela méně vhodná, protože elektrody byly řazeny za sebou (sériově) napříč proudem (DeAbreu, Purdy, Anal Chem 59 (1987) 204). Podobný systém jako DeAbreu a spol. představili Wang a spol. 4-elektrodová průtočná cela zde byla tvořena dvěma páry elektrod umístěných na protilehlých 50 stěnách kanálku. Elektrody v páru na jedné stěně byly řazeny sériově (Wang, Rayson, Lu, Wu, Anal Chem 62 (1990) 1924). Ačkoli byl systém navržen pro jiné účely (analýza různých selektivními elektrodami), při jiných aplikacích by mohlo docházet ke cross-talku.

Dock a spol. řešili distribuci kapaliny k více elektrodám zapojením míchacího elementu. Elektrochemickou celou představovala nádobka, jejíž dno tvořil síťotiskový senzor s osmi elektrodami uspořádanými v kruhu. Svrchu bylo nad tento senzor nasunuto míchadlo, jehož středem byl veden přítok kapaliny do cely. Kapalina byla díky míchadlu ve tvaru disku rovnoměrně distribuována ke všem osmi elektrodám (Dock, Christenson, Sapelnikova, Krejci, Emneus, Ruzgas, Anal Chim Acta 53 1 (2005) 165).

Častým řešením problému distribuce kapaliny k více detektorům je použití fluidních cel pracujících v režimu wall-jet. Kapalina je zde hnána kolmo na střed elektrody či elektrodového svazku kruhově řazeného. Sestava zajišťuje radiální proudění do všech směrů od vtoku. Zapojením většího objemu za hranici elektrodového svazku se dosahuje rovnoměrného radiálního proudění, ovšem je zapotřebí relativně vysoká rychlost proudění a hrozí nebezpečí ovlivnění jednotlivých elektrod (cross-talk) (Hoogvliet, Reijn, van Bennekom, Anal. Chem. 63 (1991) 2418, Lindgren, Munteanu, Gazaryan, Ruzgas, Gorton, J Electroanal Chem 458 (1998) 113).

Nevýhody dosavadních řešení odstraňuje předkládaný vynález.

Podstata vynálezu

Předmětem předkládaného vynálezu je zařízení rozdělující tok tekutiny rovnoměrně do více kanálů, jehož podstata spočívá v tom, že obsahuje hlavní přívodní kanál, který je přímo (tj. bezkomůrkově) rozdělen na alespoň dva kanálky, přičemž všechny kanálky mají stejný průřez, tvar a stejnou délku. Každý kanálek vede alespoň k jednomu detekčnímu prvku, a na výtoku kapaliny z kanálků je zařazena sběrná komora. V kanálcích je rychlost proudění alespoň dvakrát větší, než je rychlost proudění ve sběrné komoře. Při vyšších rychlostech proudění ve sběrné komoře oproti rychlosti proudění v kanálcích by mohlo dojít k ovlivnění rychlosti proudění v jednotlivých kanálcích a k nerovnoměrnému rozdělení toku. Umístění detekčních prvků v kanálcích se odvíjí od použitého způsobu detekce (elektrochemicky, opticky, gravimetricky, atd.), přičemž je důležité, aby detekční prvky svým tvarem ovlivňovaly tok kapaliny shodně, např. tvořily stejně velkou část stěny kanálku.

Odvod tekutiny ze sběrné komory je s výhodou realizován výtokem umístěným symetricky vzhledem k alespoň dvěma kanálkům a s průřezem shodným či větším než je průřez společného vtoku do cely před rozdělením.

Detekčním prvkem může být například elektroda, senzor, biosenzor, obecně jím může být jakýkoliv detekční prvek vhodný pro zjišťování vlastností měřeného vzorku kapaliny nebo kapaliny obsahující další látky rozpuštěné nebo ve formě emulze či suspenze. Umístění detekčního prvku v kanálku se odvíjí od proudění v daném kanálku. Optimálně by měl být umístěn v takové vzdálenosti od rozdělení toku, kde je již profil proudění vyrovnán, a v takové vzdálenosti před vývodem do sběrné komory, kde není profil proudění tímto vývodem ovlivňován.

Zařízení lze využít zejména pro průtokovou a průtokovou injekční analýzu. Předmětem předkládaného vynálezu je tedy také použití zařízení pro průtokovou a průtokovou injekční analýzu.

Zařízení podle předkládaného vynálezu dovoluje přivést na všechny detekční prvky ve stejném čase stejné množství měřeného roztoku a minimalizovat promíchávání mobilní fáze se segmentem měřeného roztoku před detektory. Rovnoměrné rozdělení toku pro všechny detekční prvky zajišťuje to, že charakter a intenzita naměřených signálů se neliší v důsledku rozdílného proudění.

Minimalizace promíchávání proudu před detekčními prvky je zajištěna krátkým přívodem a přímým rozdělením na jednotlivé kanálky vedoucí k detekčním prvkům. Při Reynoldsově čísle

menším než 1000 se udržuje laminární proudění, tudíž nedochází k promíchávání jednotlivých vrstev proudící kapaliny a přenos látek mezi těmito vrstvami je zajišťován pouze difúzí.

5 Pro dosažení rovnoměrného rozdělení proudu měřeného vzorku na jednotlivé detekční prvky je nutné zajistit, aby měly všechny cesty proudu (kanálky) stejnou tlakovou ztrátu od vtoku až po výtok. Přítomnost sběrné komory, ve které rychlost proudění nepřesáhne polovinu rychlosti proudění v jednotlivých kanálcích (předpokládá se stejná rychlost pro všechny kanálky), zajistí vyrovnávání tlaků a eliminuje vliv pozice výtoku na proudění před sběrnou komorou.

10 Oproti řešením známým ze stavu techniky je možné s námi vytvořeným systémem pracovat s multikanalovými senzory např. na bázi sitotiskových elektrod, tudíž je možné bez větších obtíží senzory vyměnit, když je původní znečištěn či jinak znehodnocen (problém obnovy detekčního povrchu), použít nově modifikovaný senzor atd. Naproti tomu většina dosud známých wall-jet přístupů využívá elektrody, které jsou pevnou součástí cely. Námi navržené řešení pracuje spo-

15 lehlivě i při nízkých průtocích, kdy je dostatečný objemový tok v řádech desítek mikrolitrů za minutu, což přináší menší nároky na aparaturu (nízký tlak) a menší spotřebu reagentů. V porovnání s ostatními fluidními zařízeními pro dělení toku pracujícími v tenkovrstvém režimu je konverze materiálu po přepočtení na průtok účinnější - celý tok je soustředěn v kanálcích. Některá dřívější řešení pracují při radiálním průtoku, kde proudí část kapaliny i v mezerách mezi elektro-

20 dami a tak se snižuje účinnost. Navržený systém dělení toku je díky provedení, kdy jsou použity pouze pasivní prvky, dostatečně robustní a je možné jej použít pro různé počty různých detekčních prvků.

25 Velkou výhodou předkládaného vynálezu je absolutní oddělení jednotlivých toků, čímž se eliminuje problém cross-talku. S tímto problémem se lze setkat například u vícekanalových senzorů, kdy se jednotlivé detekční prvky nachází ve společném pracovním objemu - produkty z jednoho detekčního prvku mohou rušivě zasahovat do oblastí sledovaných ostatními detekčními prvky a ovlivňovat tak jejich signál.

30 V zařízení podle předkládaného vynálezu lze rozdělit tok do dvou a více zcela oddělených toků. Rozdělení lze využít buď pro několikanásobné měření vzorku stejně modifikovaným detekčním prvkem, pak jsou v jediném měření získána data jako z n-experimentů jednocanalovým senzorem pracujícím s jedním detekčním prvkem (n je počet použitých kanálů), nebo je možné charakterizovat vzorek ve více parametrech, kdy jsou detekční prvky např. ve formě (bio)senzorů modifi-

35 kovány určitými látkami.

Vynález je dále osvětlen na příkladu provedení, který však nijak neomezuje rozsah ochrany.

40 Přehled obrázků na výkresech

Obr. 1 znázorňuje axonometrický schematický pohled na průtočnou celou podle příkladu 1.

45 Obr. 2 znázorňuje axonometrický schematický pohled na rozloženou průtočnou celou podle příkladu 1.

Obr. 3 znázorňuje schematický řez (a) a půdorys (b) spodního dílu průtočné cely podle příkladu 1.

50 Obr. 4 znázorňuje schematicky axonometrický pohled shora (a) a zespoda (b) na těsnění průtočné cely podle příkladu 1 a v detailu znázorněnou oblast kanálků (c).

Obr. 5 znázorňuje schematicky axonometrický pohled shora (a) a zespoda (b) na horní díl průtočné cely podle příkladu 1 a detailu znázorněnou oblast sběrné komory (c).

Obr. 6 znázorňuje řez průtočnou celou (a) a v detailu znázorněnou oblast rozdělení toku kapaliny (b).

5 Obr. 7 znázorňuje výsledek ověření funkčnosti zařízení měřením 1 mM ferrikyanidu draselného podle příkladu 2.

Obr. 8 znázorňuje výsledek měření cukrů ve víně podle příkladu 2.

10 Obr. 9 znázorňuje výsledek měření polyfenolických látek ve víně podle příkladu 2.

Příklady provedení vynálezu

15

Příklad 1: Konstrukce průtočné cely s vícekanálovým elektrochemickým senzorem

V tomto příkladu provedení je vynález reprezentován průtočnou celou s vícekanálovým (zde čtyřkanálovým) elektrochemickým senzorem, zobrazenou na obr. 1 až 6. Elektrochemická cela se skládá ze čtyř dílů - spodní díl 1, silikonové těsnění 2, horní díl 3 a sítotiskový čtyřkanálový senzor 6. Ve spodním dílu 1 je drážka 12 sloužící především k přesnému umístění senzoru 6 vůči fluidnímu systému tvořenému těsněním 2 a horním dílem 3. Dále jsou na spodním dílu 1 umístěny dilatační prvky 13, které slouží k reprodukovatelnému stlačení těsnění 2 při sestavení elektrochemické cely. Na spodní straně těsnění 2 se nachází část vlastního fluidního systému - čtyři stejné kanálky 10 (tvar, průřez, délka) tvoří útvar podobný kříži bez spodní stěny. Spodní stěna kanálků 10 je po složení tvořena sítotiskovým senzorem 6 obsahujícím čtyři detekční prvky 9, zde diskové elektrody o průměru 1 mm (a, b, c, d), nacházející se ve vzdálenosti 2 mm od ústí přívodního kanálu 5 do středu křížení 11. Každý kanálek 10 na konci ústí výtokem do sběrné komory 8 o objemu 18,2-krát větším ($2 \cdot 10^{-7} \text{ m}^3$), než je součet objemů jednotlivých kanálků ($1,1 \cdot 10^{-8} \text{ m}^3$). Sběrná komora 8 se nachází v horním dílu cely 3 a je společná pro všechny kanálky 10. Výtok 4 ze sběrné komory 8 se nachází mezi výtoky b a c (číslování výtoků souhlasí s číslováním jednotlivých elektrod na sítotiskovém senzoru). Také byl vytvořen prototyp s výtokem 4 ze sběrné komory 8 umístěným mezi výtoky c a d bez patrného vlivu na funkčnost.

35 Po sestavení elektrochemické cely je kapalina přiváděna přívodním kanálem 5 s vnitřním průměrem v rozsahu 0,95 až 1,05 mm, skrz horní díl 3 otvorem v těsnění o průměru 1,05 mm do místa bezkomůrkového rozdělení 11 na čtyři kanálky 10. Kanálky 10, 0,5 mm vysoké a 1,3 mm široké, jsou tvořeny shora těsněním 2 a zespodu senzorem 6. Poté je kapalina vedena těmito kanálky 10 přes detekční prvky 9, zde elektrody, a následně skrz otvory v těsnění s průměrem 1 mm směrem k výtokům, které jsou umístěny nad konci kanálků v horním dílu 3. Díky velké ploše rozhraní výtoku v horním dílu 3 ($4,21 \text{ mm}^2$) vůči průřezu kanálku ($0,65 \text{ mm}^2$), lze již tento výtok považovat za součást sběrné komory 8. Sběrná komora 8 má tvar 2 mm širokého a 3 mm hlubokého kanálku s kulovitou vrchní stěnou kruhově obepínající všechny čtyři výtoky. Poloměr osy tohoto kruhu je 5,24 mm. Rozměry výtoku 4 ze sběrné komory 8 jsou stejné jako rozměry přívodního kanálu 5. Také byl vytvořen prototyp s kanálky 10 vysokými 0,2 mm bez patrného vlivu na funkčnost.

Elektrochemická cela je sestavena pomocí čtyř šroubů 7.

50 Rovnoměrnost distribuce kapaliny mezi jednotlivé kanálky byla ověřena počítačovou simulací proudění. Rozměry jednotlivých kanálků byly pro případ simulace uvažovány 0,2 mm x 1,3 mm. Proudění bylo uvažováno stacionární a ustálené v laminárním režimu bez sdílení tepla a bez vlivu gravitačních sil. Hodnoty viskozity a hustoty použité kapaliny odpovídaly hodnotám pro

vodu. Z této simulace vyšlo, že rozdíly v průtocích mezi jednotlivými kanálky jsou menší než 0,4 %.

5 Příklad 2: Ověření funkčnosti průtočné cely s vícekanálovým elektrochemickým senzorem

Se zařízením podle příkladu 1 byla ověřována funkčnost následujícím měřením: v časech 75 a 375 s aplikován po 20 s roztok 1 mM ferrikyanidu draselného. Shodnost rychlosti průtoků v jednotlivých kanálcích lze vyvozovat z překrývajících se, tj. současných, nárůstů signálu a taktéž překrývajících se vzájemné polohy jejich maxim (obr. 7). Nerovnost hodnot maximálního signálu je dána odlišnou velikostí elektroaktivní plochy jednotlivých elektrod.

Dále byla s tímto zařízením měřena koncentrace různých látek ve vzorku vína, kdy každá ze čtyř použitých elektrod (detekčních prvků) byla modifikována enzymem tak, aby specificky detekovala daný analyt. Zařízení bylo použito pro měření cukrů (glukosa, fruktosa, sacharosa, suma pyranos, obr. 8), kyselin (suma kyselin, kyselina mléčná, kyselina vinná) či polyfenolických látek (obr. 9) ve víně. Při měření cukrů byl aplikován 20 s segment reálného vzorku vína. Jednotlivé elektrody byly modifikovány enzymy glukosaoxidasou (GOD), fruktosadehydrogenasou (FDH), pyranosaoxidasou (POD) a invertasou (INV). Pro měření polyfenolických látek byl aplikován 20 s segment vzorku vína frankovka, Vinium, Velké Pavlovice. Jednotlivé elektrody byly modifikovány hovězím sérovým albuminem (BSA) a enzymy tyrozinasou (TYR), křenovou peroxidasou (HRP) a lakasou (LAC).

25

P A T E N T O V É N Á R O K Y

30 1. Zařízení rozdělující tok tekutiny do více kanálů, **v y z n a ě n é t í m**, že obsahuje hlavní přívodní kanál (5), který je přímo rozdělen na alespoň dva kanálky (10), přičemž všechny kanálky (10) mají stejný průřez, stejný tvar a stejnou délku, a každý kanálek (10) vede alespoň k jednomu detekčnímu prvku (9) a detekční prvky (9) ve všech kanálcích (10) ovlivňují tok kapaliny shodně, přičemž na odtoku kapaliny z detekčních prvků (9) je zařazena sběrná komora (8),
35 přičemž rychlost proudění v kanálcích (10) je alespoň dvakrát větší než je rychlost proudění ve sběrné komoře (8).

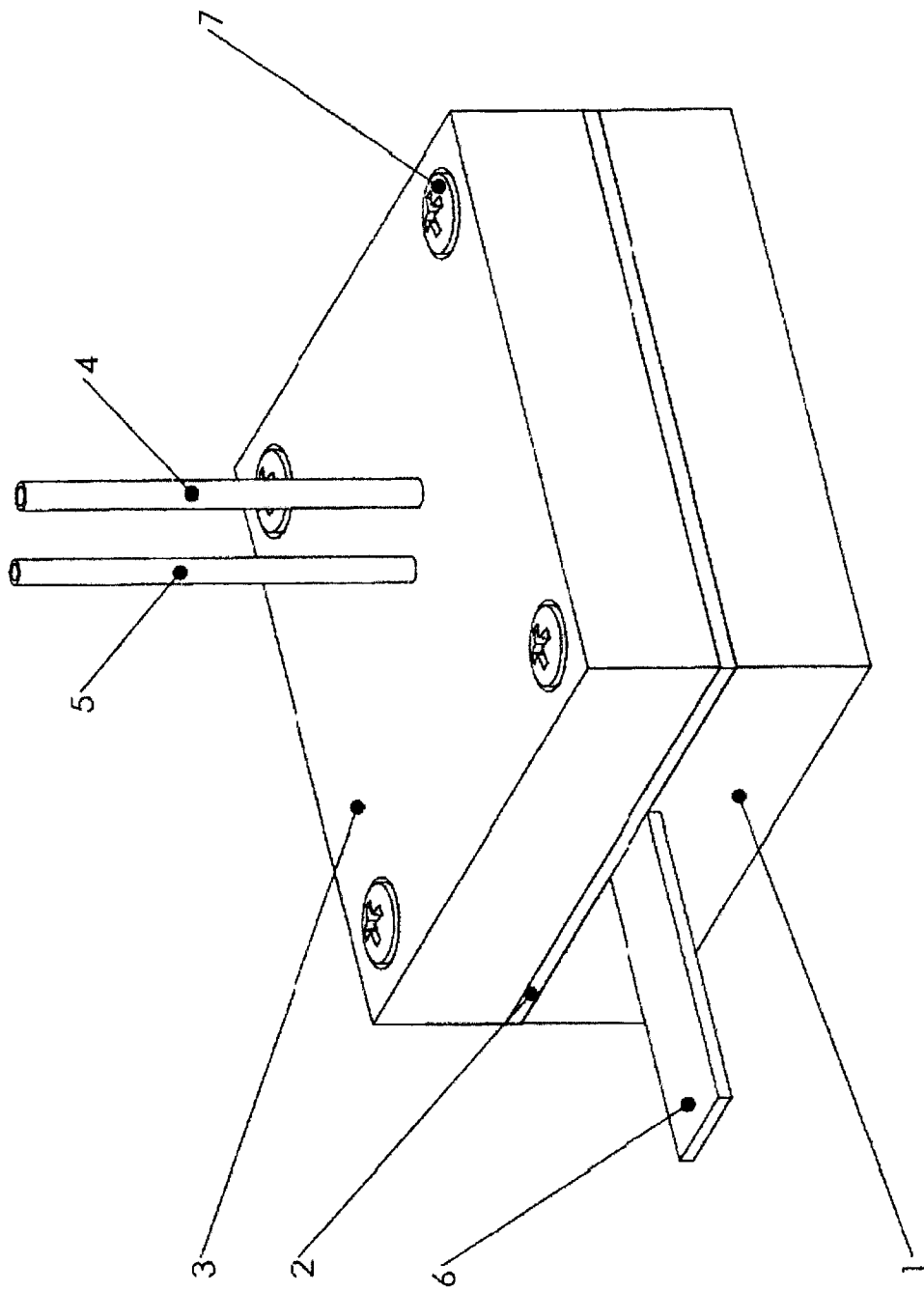
40 2. Zařízení podle nároku 1, **v y z n a ě n é t í m**, že detekční prvek (9) je vybrán ze skupiny zahrnující elektrodu, senzor a biosenzor.

40 3. Zařízení podle nároku 1, **v y z n a ě n é t í m**, že detekční prvek (9) je v kanálku (10) umístěn v místě vyrovnání profilu proudění po rozdělení toku a zároveň bez vlivu vývodu do sběrné komory (8) na profil proudění.

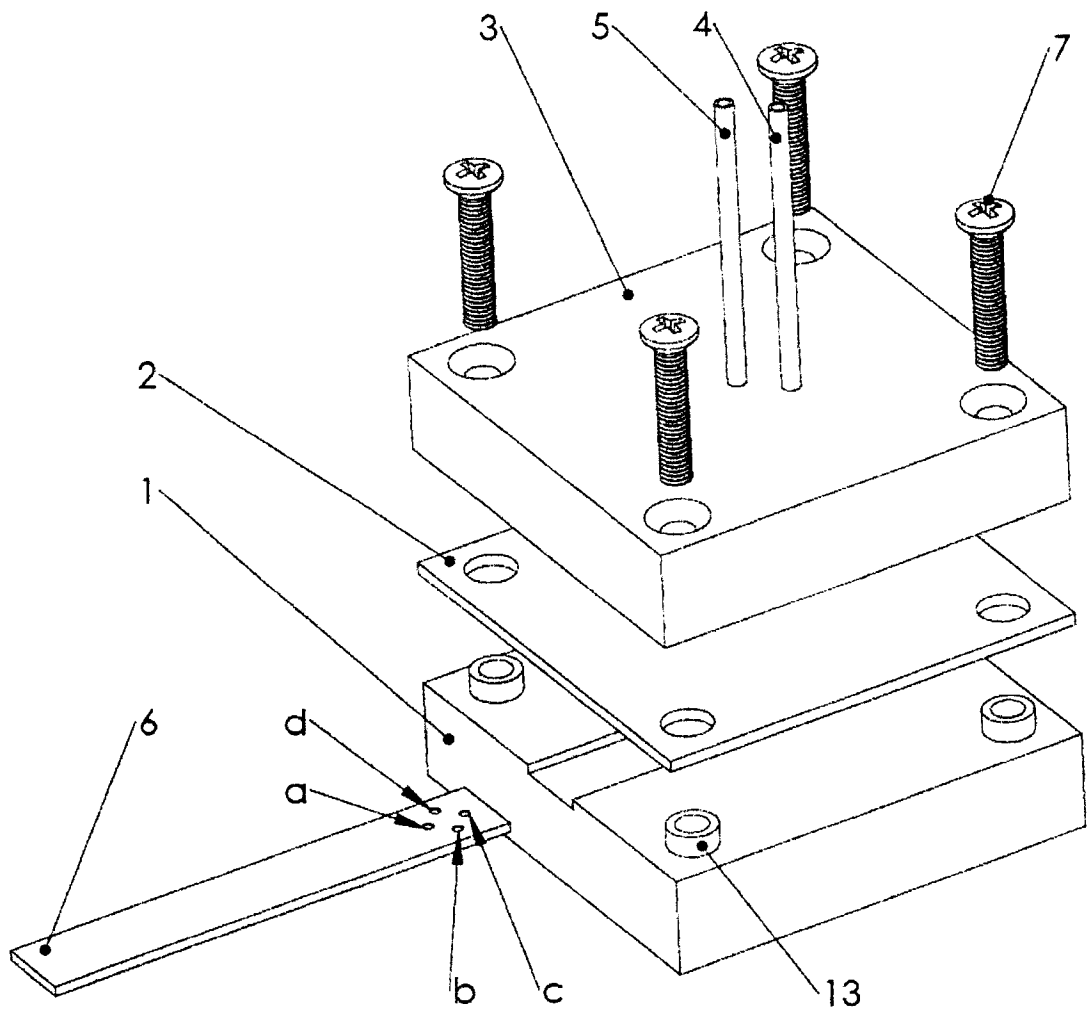
45 4. Použití zařízení podle kteréhokoliv z předcházejících nároků pro průtokovou analýzu nebo průtokovou injekční analýzu.

50

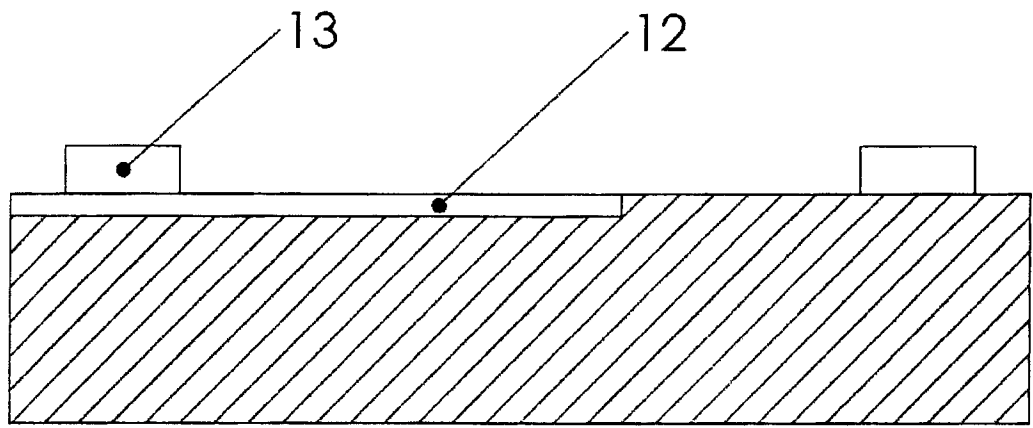
9 výkresů



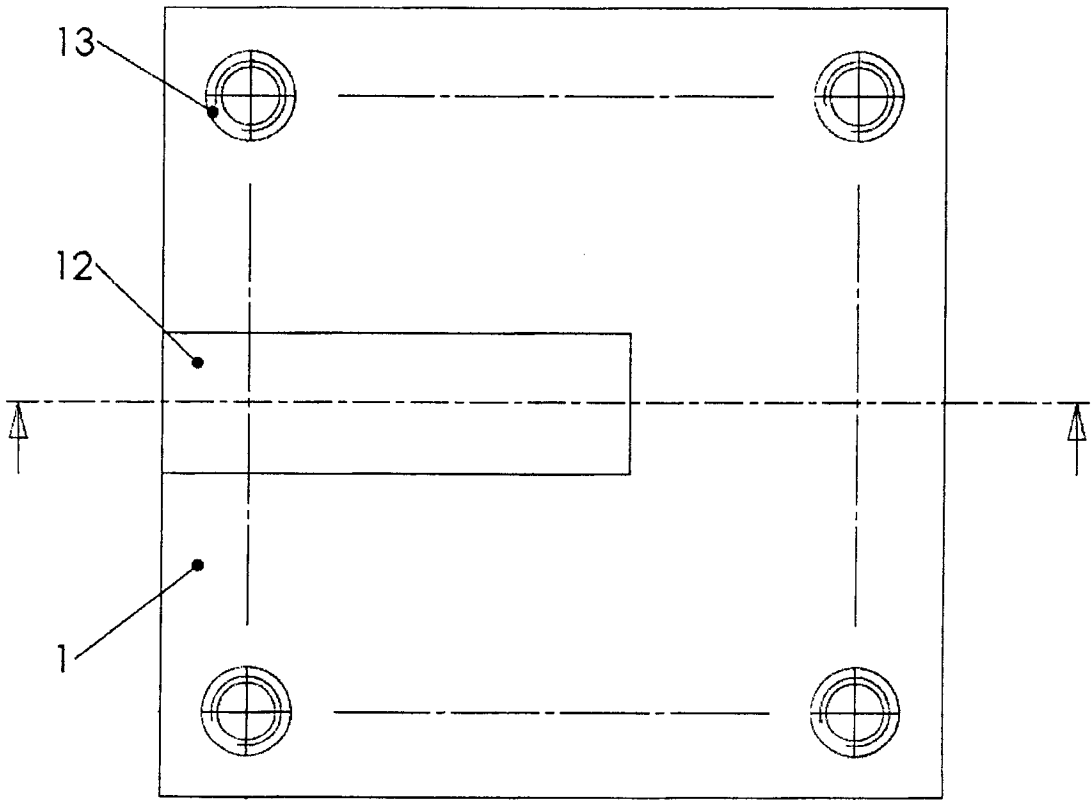
Obr. 1



Obr. 2

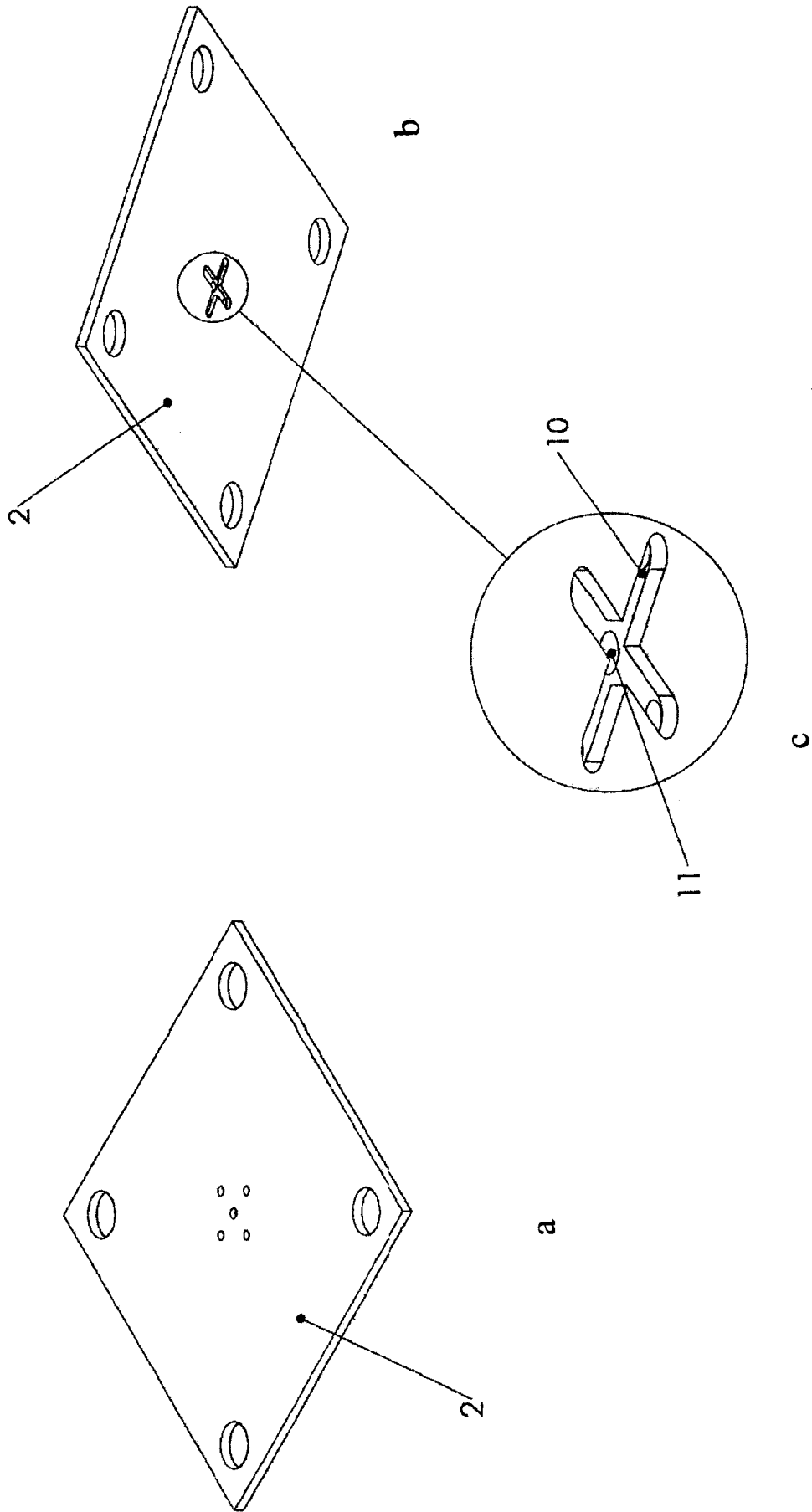


a

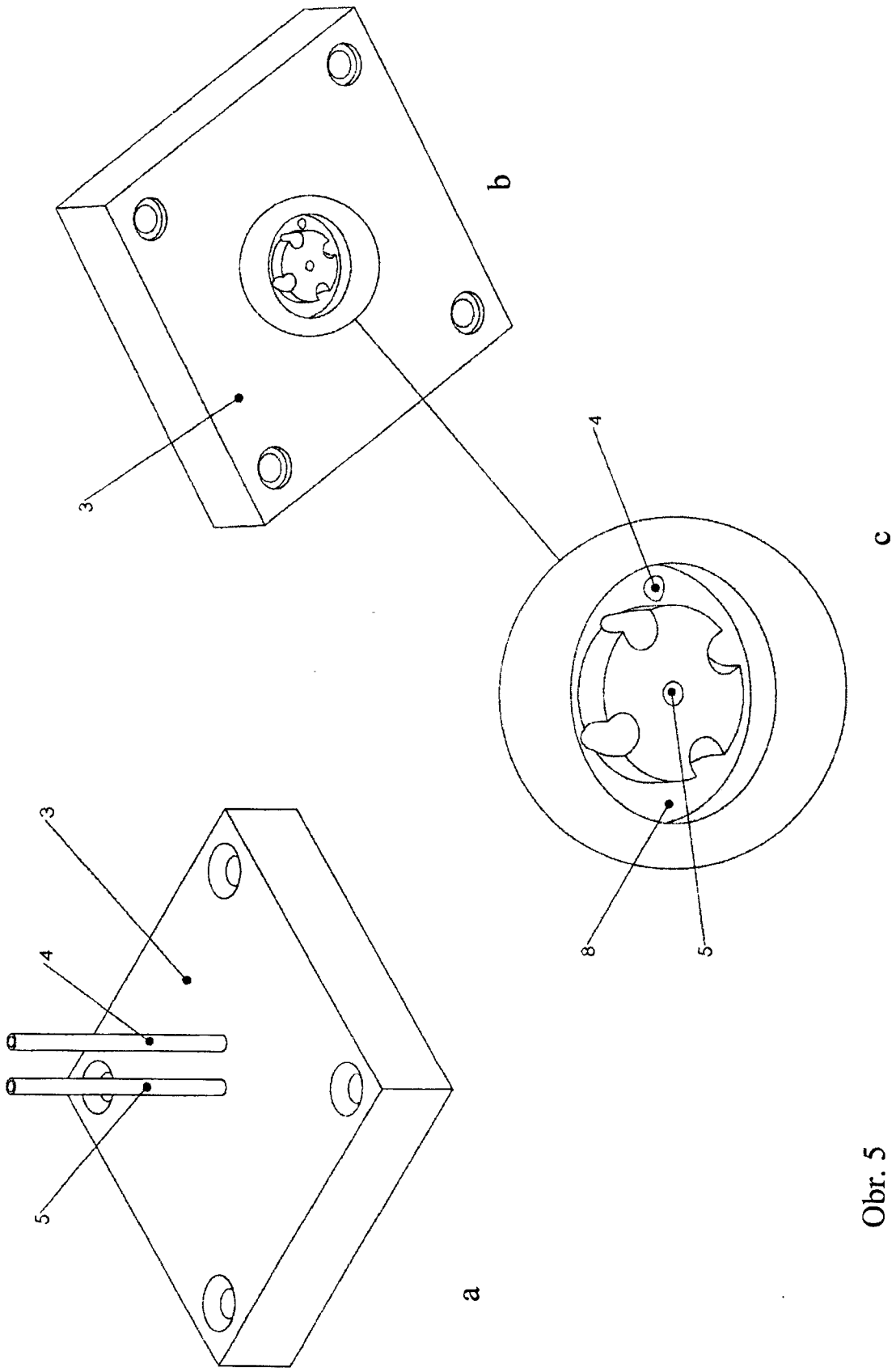


b

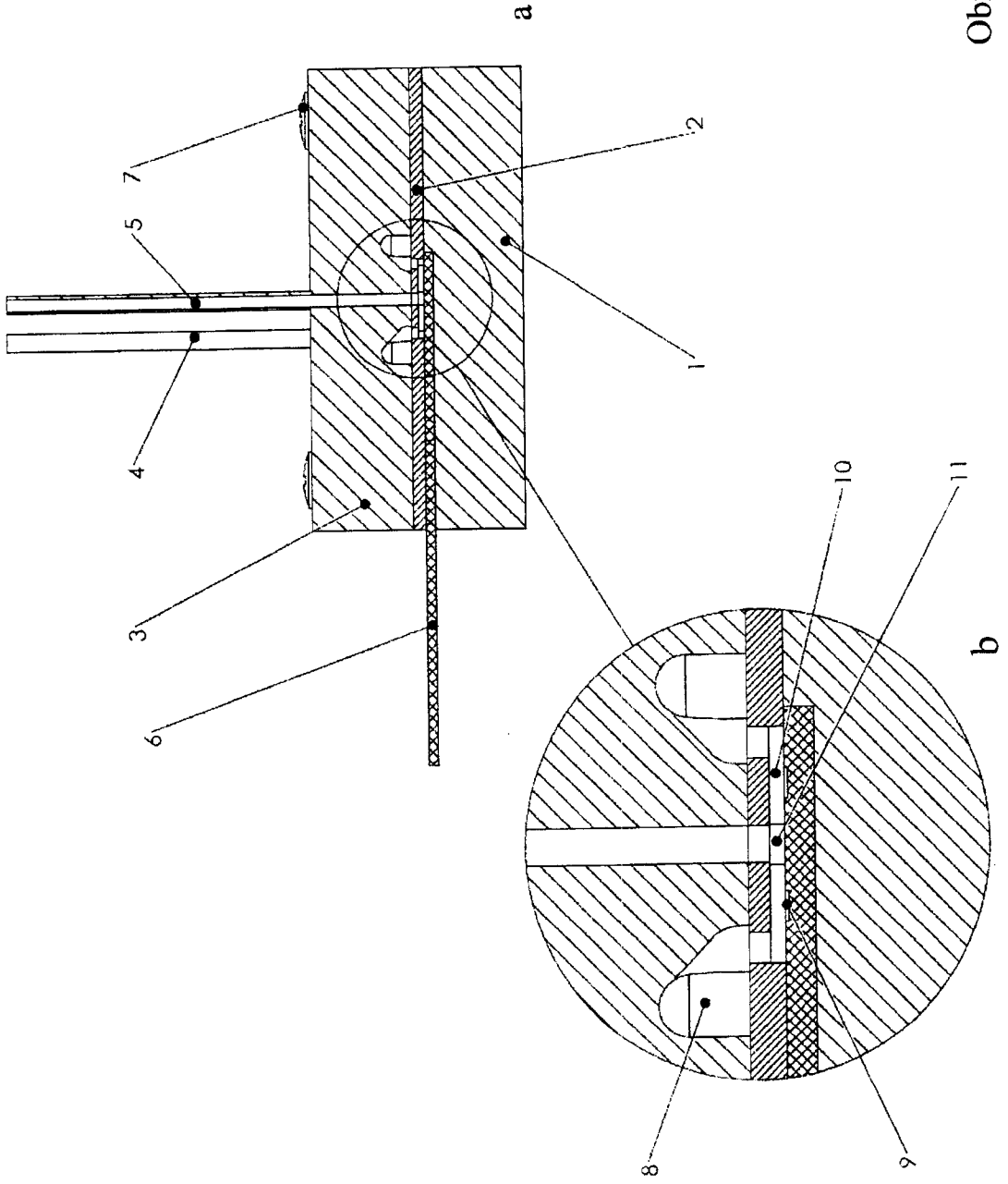
Obr. 3



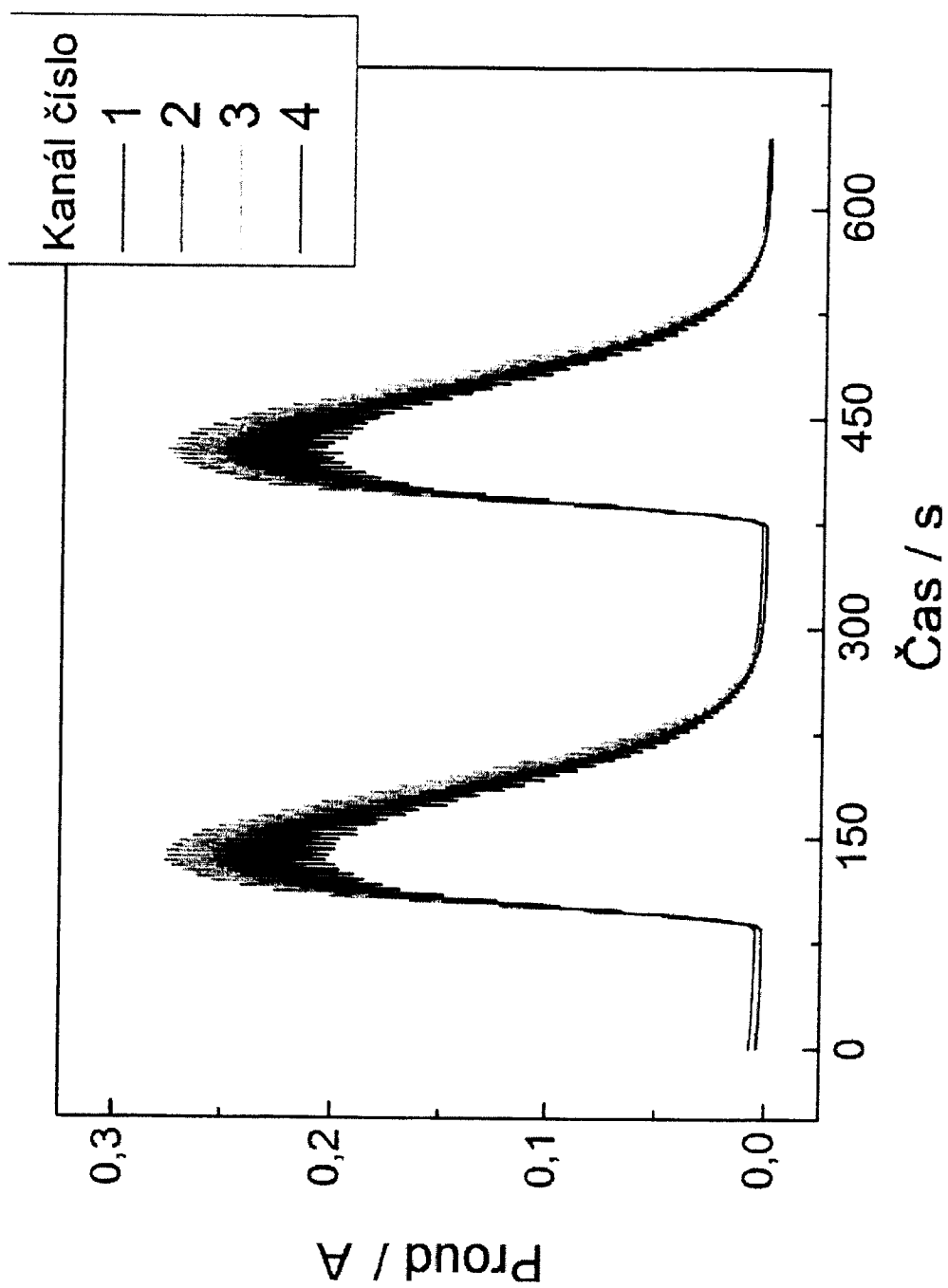
Obr. 4



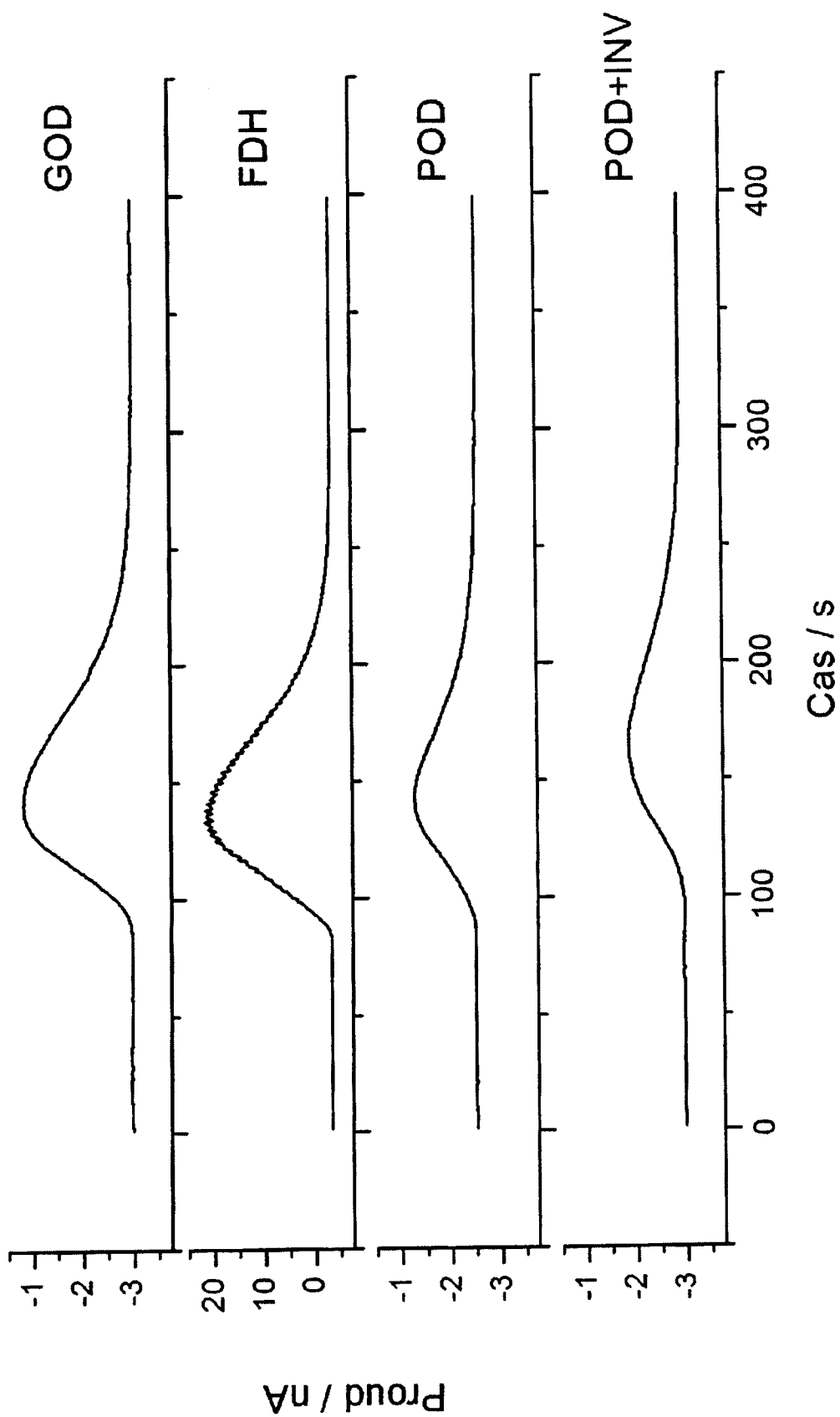
Obr. 5



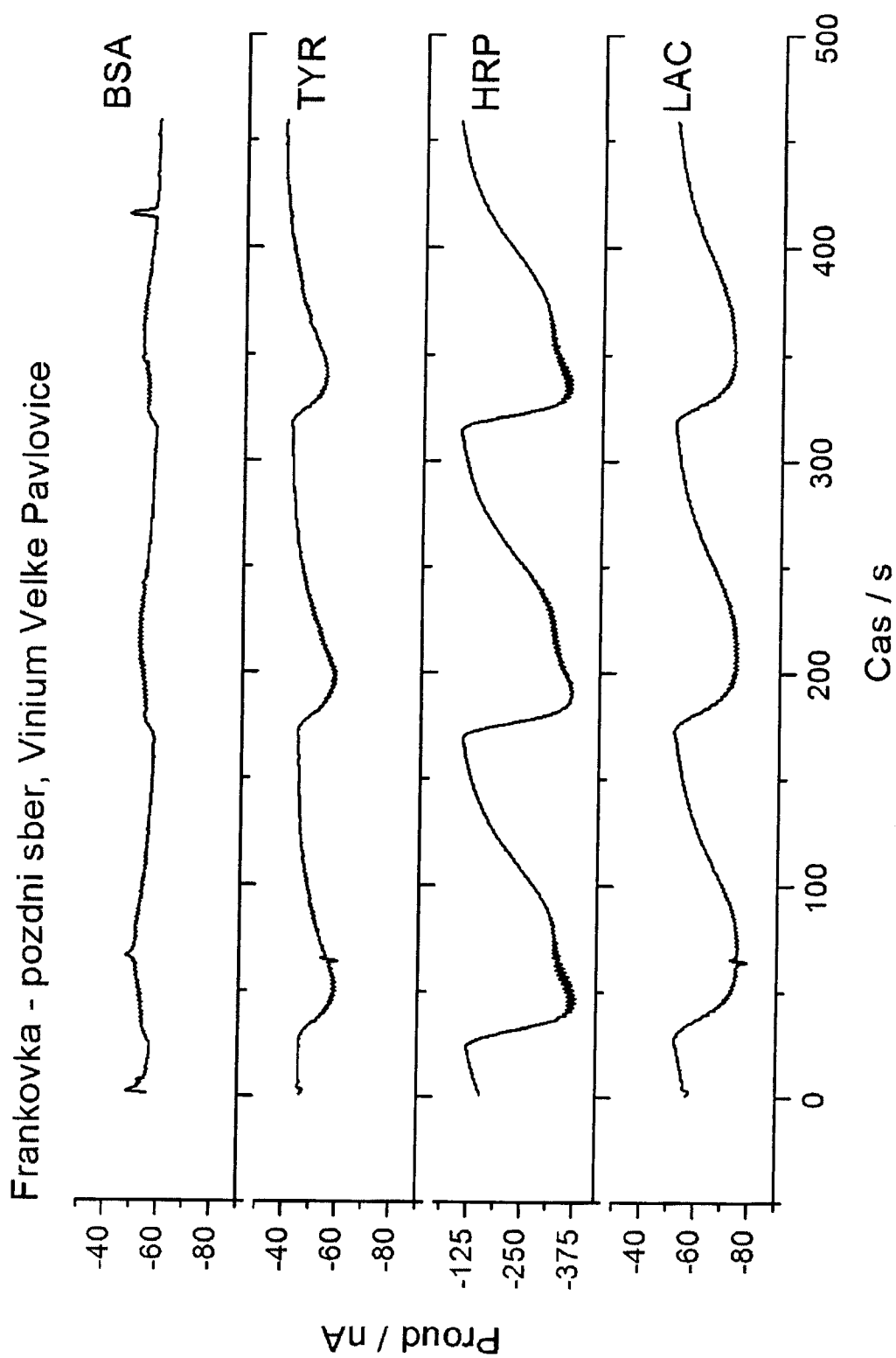
Obr. 6



Obr. 7



Obr. 8



Konec dokumentu

Obr. 9