

Braun Tibor

■ ELTE Kémiai Intézet

Miniatürizálás és automatizálás az analitikai kémiában

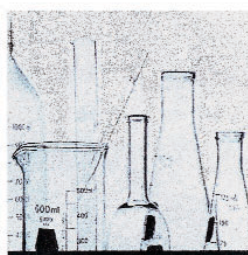
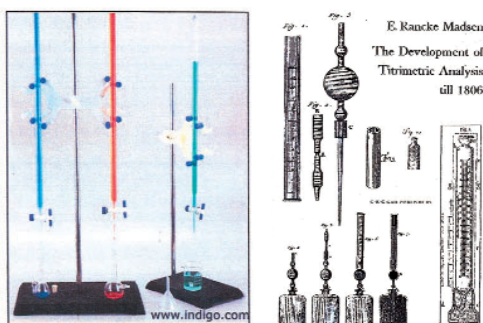
Lépések a kémcsőtől az integrált mikrofluidikai laborkártyáig vezető úton

Bevezetés

Számos alapvető mű bizonyítja meggyőzően, hogy az analitikai kémia empirikus módszertanból elismert és fontos tudománnyá fejlődött (itt csak néhány munkát említenénk [1–3]).

A 19. század elejétől az analitikai kémia tárgyát elsősorban olyan kémiai reakciókra alapozták, amelyek az elemek, funkciós csoportok és később molekulák azonosítására és kvantitatív meghatározására vonatkoztak. Később kezdett az érdeklődés a kémiai jelátalakítások felé fordulni, hogy elektromos, mágneses vagy optikai jelekben tükrözhesék a kémiai összetételt; valamint az olyan stratégiák felé, amelyek komplexkémiai összetételek elválasztására alkalmazhatók. Mindez elvezetett a műszeres analitika [4] kialakulásához, ami már alkalmassá vált a kémiai minták jelentős komplexitású és érzékenységre mérésre és ellenőrzésre, valamint utat nyitott és nélkülözhetlenné vált a kémia, ipar, környezet, klinikai diagnosztika, minőség-ellenőrzés minden területén.

1. ábra. Analitikai kémiai térfogatmérő edények és eszközök időbeli változatlansága



A modern analitikai laboratóriumok műszerezettségének fejlődését látva és figyelve meglepően hat, hogy ezen laboratóriumokban főleg az elemzendő, feldolgozandó minták előkészítéséhez és folyadékok kezeléséhez használt üveg- és mérőedények formája, térfogata és jellege a 20. század második feléig számított 200 év alatt alig változott az analitikai oldatkezelések során, mint az az 1. ábrán bemutatott klasszikus analitikai tankönyv címlapján és egy mai laboratóriumi üvegárut forgalmazó cég katalógusából vett példán látható.

A 20. század közepére az analitikai kémia fejlődése vezetett oda, hogy a fentebb felsorolt területeken százmilliós, sőt milliárdos nagyságrendre terjedt a világszerte analizálandó minták száma. A nagyságrend érzékeléséhez példaként gondoljunk csak a világszerte és naponta elvégzett és az orvosi diagnosztikában nélkülözhetetlen klinikai analitikai laboratóriumi (vér, vizelet) vizsgálatokra és a minőség-ellenőrzés, környezetvédelem, mezőgazdaság stb. által támasztott hasonló kívánalmakra.

E helyzet hozta létre az egyre sokasodó analitikai oldatok kezelése nyomán óhatatlanul felmerült olyan igényeket, mint:

- a minták feldolgozásánál használt vegyszerek, reagensek térfogatának és a laboratóriumi berendezések helyigényének csökkentése;
- az elemzések gyorsítása, azok számának növelése;
- az elemzések automatizálása.

Az említett igények kielégítésére vezették be például az oldatkezelő eszközök miniatürizálását, és az ezzel együtt járó sorozatanalitikai és analitikai folyamatos, automatizált méréseket, elemzéseket. Ez a terület hatalmasra nőtt és átfogó bemutatására e helyütt lehetetlen lenne igényt tartani. Jelen dolgozat csak azokat a lépéseket kísérli meg vázolni, amelyek a címben említett terület kialakulásához vezettek.

Első lépés a miniatürizálás felé vezető úton

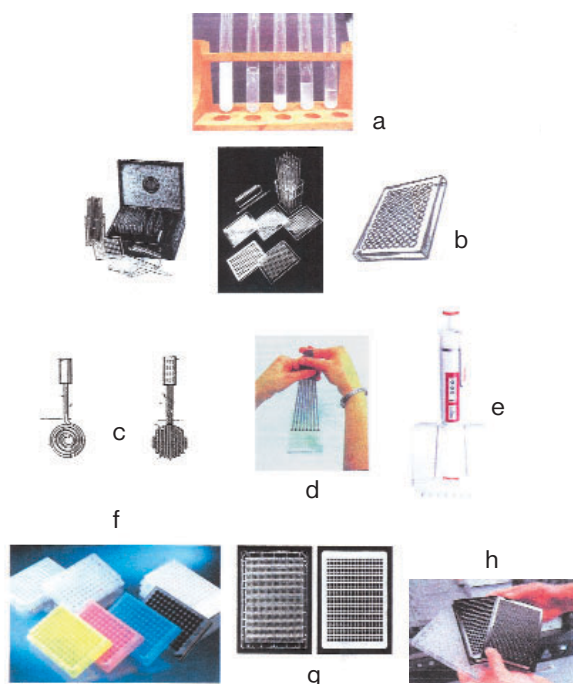
Az egyedi minták feldolgozásától a sorozatos mintaelemzésig

Az analitikai sorozatelemzések (array) és az eszközök méretcsökkentése felé tett első lépés hazánkhoz és egy magyar kutató nevéhez és találmányához köthető.

Takátsy Gyula inframikrobiológus, influenzakutató 1951-ben a



Kísérletes Orvostudomány című hazai folyóiratban cikket publikált „Új módszer sorozatos hígítások gyors és pontos elvégzésére” címmel [5]. A módszer lényegében az influenzavírus-teszt során kémcsövekben addig elvégzett hígításos szerológiai titrálásnak [6] nevezett eljárást^a kívánta egyszerűsíteni és gyorsítani azért, hogy téglalap alakú plexiüveg lapon 12 sorban fűrt 96 mélyedéssorozattal (üreges mikrolappal) helyettesítette az addig használt egyedi kémcsöveket, és a hígítást pipettázás helyett platinadrótból gömbölyűre kialakított „spirálkacsokkal” végezte (2. ábra). Ha a kacsokat folyadékba mártották, a folyadék megtöltötte őket, és a felületi feszültség a felvett folyadékot a kacsban akkor is megtartotta, ha azt a folyadékból kiemelték. Említett



2. ábra. Mikrotitrálás és titrálási mikrolapok. a) Egyedi kémcsősorozat. b) Takátsy-féle mikrotitrátor és eszközei. c) Takátsy-féle spirálkacsok. d) Sorozathígításos mikrotitrálás kacsokkal és furatos (mélyedésses) mikrotitráló lappal. e) A 90-es években kifejlesztett, a kacsokat később helyettesítő automata mikropipetta. f) Színes titrálási mikrolapok. g) A 90-es években kifejlesztett 384 és 1536 üregű mikrotitráló lapok (mikroliteres folyadéktérfogatokhoz). h) Titrálási mikrolapsorozat

dolgozatában Takátsy az üreges mikrolapok alkalmazásával megvalósította a minták térfogatának körülbelül egy nagyságrendi csökkentését, valamint elsőnek a világon eszközt talált fel és javasolt analitikai sorozatminták párhuzamos gyors feldolgozásához.

Takátsy valószínűleg tudatában volt találmánya forradalmi jellegének és a klinikai analitikai és más laboratóriumi mérések fejlődésére hatást gyakorolható korszakalkotó jelentőségének. Azonban az akkori időkben (1950-es évek) a hazai tudományos kutatás eredményeinek külföldön és idegen nyelven való publikálási tilalma miatt cikkét más nyelven nem publikálhatta.

Cikkével egy időben Takátsy az akkori Országos Találmányi Hivatalnál szabadalmi igényt is bejelentett. Azt azonban a Hivatal 1951. évi június 14-i döntésében a népgazdaság szempontjából tekintett kis jelentőségre hivatkozva visszautasította. Az eljárást és az arra alapozott készletet, a Takátsy-féle mikrotitrátort (2. ábra) az 1960-as évek második felében az esztergomi Labor Mű-

szeripari Művek gyártani, és itthon, valamint a Metrimpex Külkereskedelmi Vállalattal együttműködve külföldön is forgalmazni kezdte. Jelen írás szerzője, a Metrimpex Külkereskedelmi Vállalat felkérésére, más laboratóriumi műszerekkel együtt több nagy műszeripari nemzetközi kiállításon (Párizs, Bazel, Frankfurt/M) a külföldi érdeklődőknek használatban is bemutatta a mikrotitrátort. Takátsy Gyula, többszöri újabb elutasítás után, a mikrotitrátorra 1963. május 7-én szabadalmi oltalmat kapott, azonban annak más országokra való kiterjesztését, illetve érvényesítését a Labor Műszeripari Művek hanyag kezelés, illetve oda nem figyelés miatt elmulasztotta. Ezáltal a mikrotitrátor elve és maga a műszer külföldi (nyugati) országok műszergyártóinak szabad koppintási prédájává vált [7].

Közvetlen következményként az Egyesült Államokban 1962-ben az „Application of a Microtechnique to Viral Serological Investigations” [8] című cikkében a szerző jelentéktelen módosítással sajátjaként írta le a mikrotitrátor elvét. A cikk összefoglalója például a következő mondattal kezdődik: „A microtechnique (modified Takátsy) is described which can be applied to complement fixation, hemagglutination, hemagglutination, inhibition and metabolic inhibition tests.” A Takátsy-féle gondolat és megvalósítás alapján világszerte számos cég kezdte el gyártani a kémcsöveket helyettesítő, különböző számú és ürtartalmú üregekkel ellátott titrálási műanyag mikrolapokat (2.f,h,g ábra), és gyártja milliószámba ma is. Ezek használata nem csak a klinikai sorozatanalitikát [9] forradalmasította. A kacsokat azóta teljes mértékben helyettesítették az automata pipetták és pipettázóberendezések (2.e, 3. ábra). Az elsőként Takátsy által feltalált üreges mikrolapokat azonban mindmáig használják a világban.



3. ábra. A Takátsy-féle mikrolapok kezelésére (pipettázás, titrálás, tisztítás) épített automata berendezések egyike

Az 1950-es évek hazai patológiás környezeti publikálási tilamai meggátolták Takátsyt, hogy eredményeit megfelelően publikálja és szabadalmaztassa, a szabadalmaztatási hátrányából külföldi műszergyártó cégek gazdagodtak meg. Jelentős késéssel ugyan, Takátsy üreges mikrolapok feltalálására vonatkozó prioritása és tudományos érdemei teljes elismerést kaptak, és ma már a klinikai analitikai laboratóriumi titrálás és az analitikai mikrolapok alkalmazása klasszikusának tekintik [10–11]. A mikrolapok kezeléséhez (pipettázás, leolvasás, tisztítás) számos berendezést gyártanak és forgalmaznak ma is világszerte. Példaképpen a 3. ábrán a BIOTEK cég készüléke látható.

1990-ben világszerte több mint 15 vállalat gyártotta nagy sorozatban a titrálási mikrolapokat, és akkori értékelések szerint csak 2000-ben 125 millió lapot használtak analitikai célokra [7].

A fentebb ismertetetteket nemcsak azért tekintjük figyelemre méltónak, mert a Takátsy-féle titrálási mikrolapok jelentették az



analitikai kémiát forradalmasító sorozatméréses miniaturizálás első lépését, hanem azért is, mert fényt vethettek a hazai tudományos eredmények publikálásának és szabadalmaztatásának patológiás viszonyaira a múlt évszázad ötvenes éveiben. A titrálási mikrolemezek gyártásából és forgalmazásából mindmáig világszerte sokan gazdagodtak meg. Az 1914-ben született és 1980-ban elhunyt Takátsy Gyula, sajnos, nem tartozott közéjük.

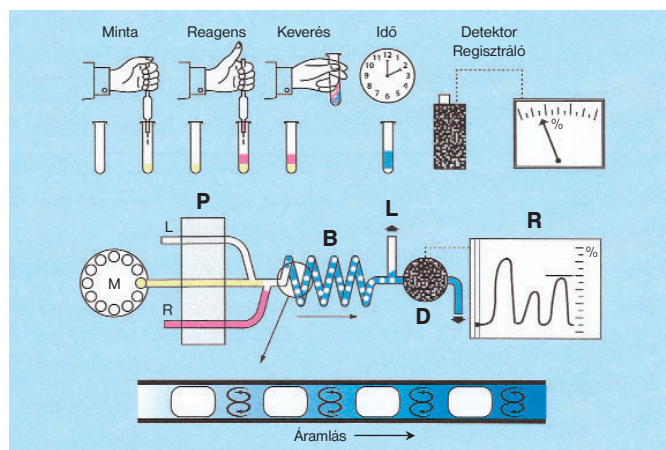
Végezetül megemlítjük, hogy egy 2010-ben publikált összefoglaló cikkben [13] „Analytical Ancestry: Evolution of the Array in Analysis” (*Analitikai eredet: a sorozatmérés fejlődése az analitikában*) címmel hangsúlyozzák az analitikai sorozatvizsgálati mikroeszközök, beleértve az üreges mikrolapok mindmáig tartó jelentőségét.

Második lépés a miniaturizálás felé vezető úton Folyamatos áramlásos analízis (Continuous Flow Analysis, CFA)

Leonard Skeggs egyesült államokbeli vegyész a múlt évszázad ötvenes éveiben egy clevelandi kórház klinikai kémiai laboratóriumában dolgozott, ahol naponta több száz vizelet- és vérmintát elemeztek.

Miután látta a négy technikusa által felhasznált jelentős reagensmennyiséget és azt a hosszú időt, amit a minták egyedi elemzésére fordítottak, felmerült benne, hogy az egyedi, illetve sorozatos elemzésekkel szemben találni kellene valamilyen analitikai eljárást, ami a sok mintasorozat szekvenciális sorozatelemzését folyamatossá tenné. Nem a klinikai laboratóriumban, ahol dolgozott, hanem a háza pincéjében kialakított kis laborhelyiségben kísérletezte ki azt az eljárást, ami folyadékminták rugalmas gumi-, vagy műanyag csövekben perisztaltikus pumpával való folyamatos áramoltatásán alapult, és ami később a Continuous Flow Analysis (CFA) (folyamatos áramlásos analízis) elnevezést kapta. A CFA-ról publikált 1981-es összefoglaló dolgozatában [14] Motolla azt hangsúlyozta, hogy a folyamatos áramlásos analízis gondolatával Skeggs olyasmire jött rá, ami előtte senkinek eszébe nem jutott, és annak alapján egy önműködő analitikai berendezést hozott létre. Ez a berendezés, amint a 4. ábrán látható séma mutatja, mintaadagolóból, perisztaltikus pumpából, különböző vastagságú műanyag csövekből, áramlásmérőből, cső-

4. ábra. A Skeggs-féle folyamatos CFA analízátor alaprajza [18] az egyedi mintafeldolgozással szembevetve (fent), L: levegő, R: reagens. Levegőbuborékokkal elválasztott folyadékminták a csőben (lent)



spirálból és analitikai detektorból állt. Az alapvető elképzelés szerint az ábrán sárgával jelzett áramló, úgynevezett vívő, vagy szállító folyadékáramba oldalról beáramoltatott levegőbuborékok szakították a folyadékáramot folyadékdugókká. A folyadékdugóhoz szintén oldalról, áramlással adagolt elemzendő minták és reagens a spirálcsőben áramló folyadékdugóban keveredtek, majd folyamatos továbbáramoltatással végül a fotometriás detektorba értek. Itt lezajlott a mérés, és a berendezéshez kapcsolt regisztrálóban megjelentek az eredmények.

1957-ben publikált cikkében [15] és azzal egyidejűleg bejelentett szabadalmában Skeggs a folyamatos áramlásos analitika koncepciójának kidolgozásával megnyitotta a sokminta gyors folyamatos analitikai mérések felé vezető utat.

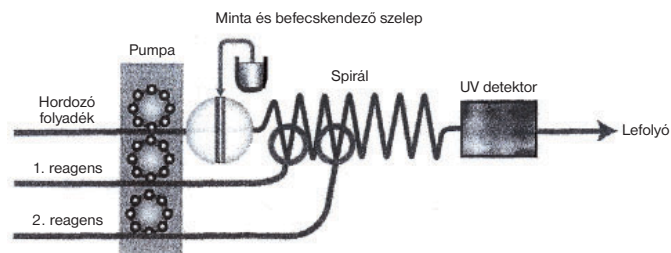
Érdemes megjegyezni, hogy első látásra a kortársak annyira nem ismerték fel Skeggs ötletének a jelentőségét, hogy az 1957-es cikk közlését a *Journal of Clinical Chemistry* visszautasította, és végül csak jelentős átírás után fogadta el közlésre. Sőt, Skeggs hiába ajánlotta fel szabadalmaztatott találmányát gyártásra világhírű műszergyártó cégeknek (például Beckman, Hewlett-Packard), próbálkozásai eredménytelenek maradtak. A cikk visszautasítása, majd későbbi elfogadása körüli bonyodalmakat Skeggs egy 1978-ban publikált dolgozatban [16] írta le. Végül egy alig 12 személyt foglalkoztató, egyesült államokbeli kis cég, a Technicon ráértett a folyamatos elemzés elvének jelentőségére és a benne rejlő műszerfejlesztési lehetőségekre: 1969-ben megépítette és forgalmazni kezdte az AutoAnalyzer elnevezésű berendezést. A készülék és különböző változatai világsikerré váltak, és milliárd dolláros profitot hoztak a gyártóknak.

Harmadik lépés a miniaturizálás felé vezető úton Áramlásos befecskendezéses analízis (Flow Injection Analysis)

A FIA felfedezéséről Stewart 1981-ben publikált dolgozatára [17] és véleményére hivatkozhatunk. „1970-ben Nagy, Fehér és Pungor beszámolt grafitelektródok alkalmazásáról folyamatosan áramló folyadékmintákba befecskendezett voltammetriás méréséről. Ez az általam talált legkorábbi olyan beszámoló, ami ma áramlásos befecskendezéses analízisnek (FIA) lenne nevezhető.” Ezt a FIA kezdeteire vonatkozó állítást hasznosan egészítheti ki Margoshes [18] 1982-ben közzétett álláspontja, miszerint: „Ruzicka és Hansen dániai csoportja említhető elsődlegesen, ha a szegmentálatlan folyamatos áramlásos eljárások gyakorló analitikai kémikusok általi elfogadtatásáról beszélünk, valamint stimuláló volt érdeklődésük a minták áramló folyadékba való befecskendezésének elméleti és gyakorlati vonatkozásai iránt. De nem hagyhatók figyelmen kívül olyan, a szegmentálatlan folyamatos áramlásos rendszerekre vonatkozó úttörő munkák, mint például Pungor és munkatársaié. Ezek a korai hatvanas, illetve hetvenes években elért eredmények elektrokémiai szenzorok teljesítményének értékelésére vonatkoztak szegmentálatlan folyamatos áramlásokban.” A FIA felfedezéséről hasznos szempontokat ismertet jelen szerző egy 1984-ben publikált dolgozata is [19].

A FIA estében a különbség az, hogy míg a CFA-ban a folyadék főáramát levegődugókkal szakítják meg, addig a FIA-nál egy vívőfolyadék-főáramba fecskendezik a folyadékmintákat (5. ábra). Az alapberendezés is csak annyiban különbözik a Skeggs-félettől (4. ábra), hogy a minta befecskendezését befecskendezőcsap (5. ábra) látja el.

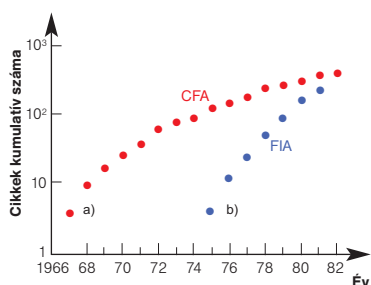
A FIA esetében a folyadék-főáramba fecskendezett mintafo-



5. ábra. A Ruzicka-Hansen-féle FIA berendezés [18]

lyadék áramlásában a detektor irányában két, lényegében kinetikai folyamat egyidejűleg jön létre: a minta fizikai diszperziója és a minta és reagens-főáram közötti kémiai reakció. Ezen folyamatok egyike sem éri el az egyensúlyt, de az áramlás sebességének ellenőrzésével a diszperzió olyan pontosan ellenőrizhető, hogy a minta és sztenderd minták párhuzamos feldolgozásával a detektálás során a minta koncentrációja reprodukálhatóan kiszámítható.

Ruzicka és Hansen a folyadékbecskendezés alapján számos berendezést dolgozott ki és szabadalmaztatott a FIA alkalmazására, és ezeket először a dán Tecator cég, majd világszerte számos más cég is gyártani kezdte. Néhány továbbfejlesztett, és különböző analitikai mérésre alkalmas változatot az 5. ábra mutat be.



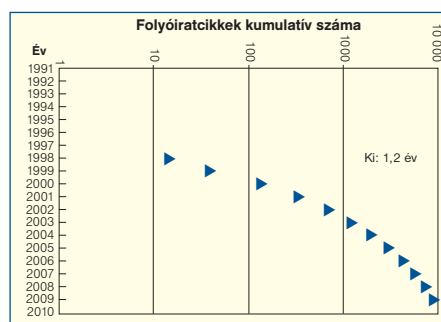
6. ábra. A CFA és a FIA téma kutatásával foglalkozó folyóiratcikkek száma növekedése [20]

Az ábrán látható, hogy a FIA különböző alkalmazásait leíró cikkek száma 1974-től kezdődően folyamatosan növekedett, és a múlt század nyolcvanas éveinek elejére utolérte a CFA-alkalmazásokat leíró cikkek számát [20].

Mikrofluidikai miniaturizálás

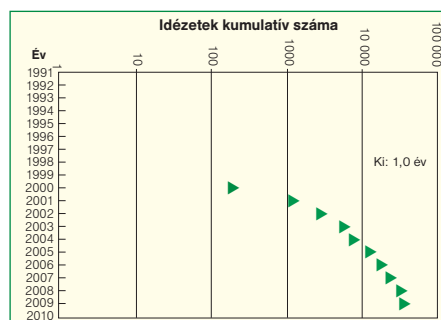
Mindennapi életünkben számos törekvést figyelhetünk meg, amely célja minél kisebb, egyszerűbb, okosabb készülékek, berendezések kialakítása. Talán a legnyilvánvalóbb és legmeggyőzőbb példaként a mobiltelefonokat, számítógépeket, másolóberendezéseket, nyomtatókat és más informatikai készülékeket említhetnénk.

A fentebb vázolt lépésekhez idomulva az analitikai kémiai folyamatok mikrofluidikai miniaturizálása a 21. század elejére az analitikai kutatás egyik jelentős trendjévé vált (7. ábra). Az ábra bemutatja a mikrofluidikával foglalkozó folyóiratcikkek és az azokra vonatkozó idézetek számának növekedését 2000 és 2010 között. A növekedés rakétasebességűnek tekinthető. Ez a trend számos területet foglal magában, például olyanokat, ahol mikrogyártás (microfabricated) szerkezeteket kutatnak egészen az olyanokig, amik ezek specifikus analitikai alkalmazásait tartják szem előtt. A mikrogyártás [21] olyan szilárd lapkák, kártyák (chipek) tisztakörnyezeti (cleanroom) előállítás, amelyekbe fo-



7. ábra. A mikrofluidikával foglalkozó folyóiratcikkek és idézeteik számának exponenciális növekedése.

Ki: kétszereződési idő (az az időszak, ami alatt a cikkek és idézetek száma a kétszeresére nő). Adatok a [26] hivatkozásból



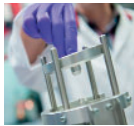
litográfiaival, közvetlen lézeres litográfiaival, nedves maratással, filmpárolgatással csatornákat vésnek. Ezt a technikát eredetileg a nyomtatott áramkörök előállítására a mikroelektronikai ipar alkalmazta.

A műszeripar gyors és korai reagálása, illetve részvétele előrevetítette egy a miniaturizált analitikai rendszerek gyártására szakosodott új ipari szektor létrejöttét, ezáltal jelentősen erősítette ezt a fejlődési trendet.

A mikrofluidika egyik legjelentősebb jellemzője az, hogy a folyadékok kis átmérőjű csatornában való áramlása során a felület/térfogat hányadosa arányosan nő a méret csökkenésével, és ez számos új analitikai lehetőséget nyújt, amint a továbbiakban látjuk majd.

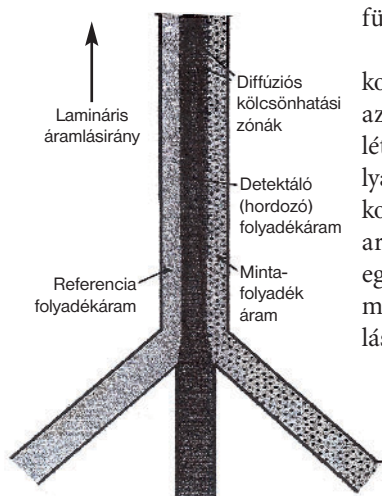
A mikrofluidika a tudomány és a technológiai rendszerek olyan területe, amelyik kis folyadéktérfogatok^d (10^{-9} – 10^{-10} liter) áramlásával, feldolgozásával és kezelésével foglalkozik tíztől több száz mikrométer átmérőjű, a fenti eljárásokkal mikrolapokba véssett, illetve préselt csatornában. Mikrofluidikai berendezések nevezhetünk minden olyat, amelyik legalább egy ilyen méretű csatornát használ. A jelentősen csökkentett folyadéktérfogatok, illetve azok mozgató, áramoltató tulajdonságai számos rendkívül hasznos lehetőséget kínálnak az analitikai kémiában, például elemzendő minták és reagensek nagyon kis térfogatainak áramoltatása, illetve az ezzel járó elválasztások és detektálások nagy érzékenységgű és felbontóképességgű megvalósítása; alacsony reagensfelhasználási költségek; gyors mérések és az eszközök csekély helyigénye. Mindehhez a mikrofluidika a rá jellemző két tulajdonságát veszi igénybe: a kis térfogatok áramoltatását és a szűk csatornában létrejövő lamináris áramlást. Ezáltal alapvetően új lehetőségeket teremt analitikai mérésekre és ellenőrzésekre.

Valószínűnek tűnik, hogy a mikrofluidika létrejöttét és megvalósítását a legjelentősebb és legjellemzőbb módon – mint említettük – a mikroelektronikának köszönheti. A legelső kutatásokban és mikrofluidikai alkalmazásokban a mikrocsatornák kialakítását szilícium- és üveglapokan valósították meg. Azonban kiderült, hogy ezeket a lapkákat rendkívül eredményesen helyettesíthetik a műanyag lapkák. A mikrofluidikai kutatásokban és fejlesztésekben szilícium- és üveglapok helyett, illetve mellett a



poli(dimetiloxiloxan)-ból (PDMS) készült lapkákat is bevezették. A PDMS például optikailag átlátszó, lágy elasztomer. Párhuzamosan azonban más polimerek, például polikarbonátok, illetve poliolefinok igénybevétele is folyt és folyik. Az a könnyedség, amivel az új és még újabb elképzeléseket a PDMS-sel ki lehetett próbálni, és öntéssel, vagy préseléssel mikrofluidikához alkalmazni, a PDMS-t a kutatások és technológiai megvalósítások kulcsfontosságú anyagává tették a mikrofluidika fejlődése során. Azonban a mikroelektronikában alkalmazott technológiák a mikrofluidika fejlődésében az üveget, az acélt és a szilíciumot megtartották olyan specializált berendezések esetében, ahol jelentős szerepet játszott a kémiai és termikus stabilitás.

Folyadékok áramlásának két formáját különböztethetjük meg csövekben, illetve csatornában: a lamináris és a turbulens áramlást. A lamináris áramlás esetében a fluidum valamely jellemző helyzetének sebessége állandó környezeti körülmények esetében nem lehet az idő véletlen függvénye.



8. ábra. Diffúzióval detektált analitikai mérés lamináris áramlás során. A hordozó-, reagens- és mintaáramok párhuzamosan haladnak a mikrocsatornában, látható – kolorimetriásan vagy fluorometriásan mérhető – kölcsönhatási zónákat képezve a hordozóáram két oldalán

ra). A nagy Reynolds-szám turbulens áramlásra jellemző, azaz olyanra, aminél különböző folyadék-„csomagok” gyors keveredést idéznek elő a csatornában. A lamináris és turbulens áramlás közötti átmenet jellemzően $Re_c = 2000$ értéknél történik. A Reynolds-számot (Re) a következő képlet írja le:

$$Re = \frac{\rho v l}{\eta}$$

ahol ρ a folyadék áramlásának átlagos sebessége a csatornában, η a folyadék viszkozitása és l a csatorna keresztmetszete [23]. Például víz áramlására egy $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ méretű csatornában 10 cm/s sebességgel körülbelül 10-es Reynolds-szám a jellemző. Ez az áramlás így messzemenően lamináris. Viszont egy $2 \times 2 \text{ mm}$ -es csatornában 10 m/s sebességgel áramló víz Reynolds-száma $20\,000$. Ugyancsak példaként említhető, hogy a diffúziós anyagátadás 100-szor gyorsabb, ha a rendszer 10-szer kisebb, például analitikai elválasztások esetében. Ugyanez érvényes a hőátadásra is.

Ezért a mikrofluidikai lamináris áramlás elősegítésére három különböző erő vehető igénybe: nyomás hatása, az elektrooszmózis, a centrifugális erő alkalmazása.

Nyomással való működtetésre mikrofluidikai lapkáknál általában külső vagy a lapkákba beépített pumpákat vesznek igénybe. Elektrooszmotikus nyomás akkor jön létre, amikor egy poláros folyadék érintkezik a szilárd lapkacsatorna felületével és elektromos tér hatása alá kerül. A poláros folyadékkal való érintkezésnél a csatorna fala elektromos töltést vesz fel. Ez elektromos töltés-átrendeződést hoz létre a folyadékban, azaz elektromosan ellentétesen töltött vékony ionréteget hoz létre a csatorna falán. Ezt merev rétegnek (stern layer) is nevezik. Ennek külsején vastagabb töltésréteg képződik, amit diffúz rétegnek nevezünk. Ez a réteg a merev réteg polarításához hasonló töltéseket tartalmaz. A merev réteg ionjai rögzítettek, míg a diffúz rétegbeliek mobilisak. Amikor a csatornára elektromos erő hat, a diffúz réteg töltése folytán mobilissá válik. Például egy kvarclapkában kialakított csatorna felülete a felületi hidroxilcsoportok jelenléte miatt negatív töltésű. Amikor ez a felület kapcsolatba kerül a folyadékkal, az abban lévő pozitív ellenionok a felületre koncentrálnak a negatív töltés ellensúlyozására. Ez diffúz réteget eredményez, amit az elektromos tér mozgásba hoz. A létrejövő egyenes irányú áramlás profiljának sebessége a következő képlet szerinti [24]:

$$v = \frac{\zeta \epsilon_r E}{4\pi\eta}$$

ahol v a folyadéktömeg sebessége, ζ a csatornafal zeta-potenciálja, ϵ_r a folyadék dielektromos állandója, E a rá ható elektromos tér erőssége és η a folyadék viszkozitása.

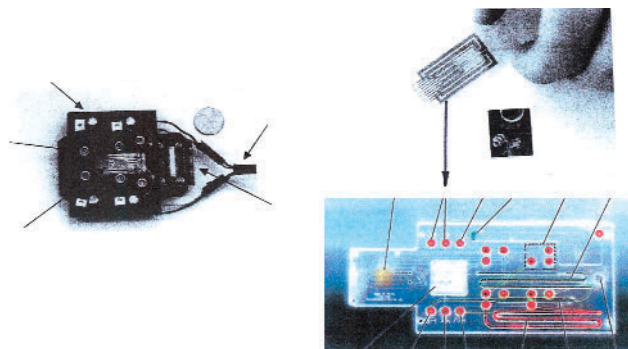
A centrifugális folyadékmozgatás korongszerűen kialakított fluidikai lapkákon történik, erre a célra kialakított pörgetőberendezésekkel. Erre egy későbbi dolgozatban térünk ki. A mikrofluidikai lapkákat különböző formákban gyártják annak érdekében, hogy analitikai mintafeldolgozásra és alkalmazásra megfelelővé váljanak. Néhány ilyen lapkát mutat be a **9. ábra**. Ezekben analitikai mintaoldatok, illetve reagensek áramoltatása, átírányítása, ágaztatása, keverése, elválasztása stb. oldható meg. A megfelelő eszközökkel ezek egymáshoz és külső berendezésekhez, például pumpákhoz, detektorokhoz csatlakoztathatók.

Integrálás, lab-on-a-chip rendszerek [25]

A múlt század ötvenes éveinek végén felfedezték az integrált nyomtatott áramköröket [26]. Az összes elektronikai komponens egyetlen félvezetőre, eleinte germánium-, később szilíciumlapkára integráltak, s tranzisztorokból, ellenállásokból, kondenzátorokból és megfelelő csatlakozóikból álló áramköröket hoztak létre: ezáltal feleslegessé vált az alkatrészek kézi összeszerelése. Az integrált áramkörök építése által ihletve a múlt század kilencvenes éveiben a **9. ábrán** bemutatott mikrofluidikai lapkákból, csatlakozókból, valamint külső pumpából és detektorokból kialakuló integrált mikrofluidikai berendezések kialakítására adódott lehetőség [27]. Ezeket a szakirodalomban a *lab-on-a-chip* névvel jellemezték. Jelen szerző tudomása szerint ennek a kifejezésnek még nem alakult ki magyar nyelvű változata. Mivel a szó szerinti fordítás meglehetősen nehézkes és félreérthető lenne, felmerült a „laborlapka”, vagy a ma már mindennapi használatban lévő, bankkártyákhoz hasonló és méretben is összevethető „laborkártya” elnevezés. A továbbiakban az utóbbit használjuk.



A laborkártya-kutatás további, főleg közeljövőbeli fejlődésének előrejelzésére talán érdemes megjegyezni: a szerző valószínűnek tartja, hogy a jelentősen terjedő 3D nyomtatók lehetővé teszik, hogy a kutatók saját szükségleteiknek megfelelően nyomtassanak, illetve sajátkezűleg állítsanak elő, építsenek mikrofluidikai laborkártyákat [30, 31].



11. ábra. DNS hibridizálási vizsgálatokra alkalmas laborkártya és berendezés [34]

Végezetül röviden visszatérhetünk a címben jelzett kiindulási ponthoz, azaz a kémcsőhöz. Ugyanis a kémiai és az orvos-biológiai kutatások egyre intenzívebb szinergetikus átlapolása a miniaturizálás terén is hangsúlyozni kívánja jelenlétét és igényeit. Ilyenek például a „living cells as test tubes” (élő sejtek mint kémcsövek), amelyeket a sejtfaltól elzárt edényekként vizsgálhatnak, és a bennük végbemenő vagy esetleg végbe vihető reakciókat is tanulmányozhatják. És persze a rendkívüli kis folyadéktérfogatok analitikai felhasználási jövőjeként említhetők az olyan fejlesztések, amelyeket az „analytical chemistry on the femtoliter scale” [32] (analitikai kémia a femtoliter tartományban) névvel illethetünk^c. Ez szorosan összefügg a még csak törekvésként, de már jelen lévő nanofluidikai nanokártyák (nano-chips) elgondolásaival [33].

JEGYZETEK

- ^a Szerológiai titrálás: vérsérumban antigén, illetve antitest sorozatos, gyakran tíz lépésben elvégzett hígítása az olyan, legnagyobb hígítás meghatározására, amely még detektálható antitestet tartalmaz. Ennek a hígításnak a reciprokát a szérumban antitest-titerének nevezik.
- ^b Ennek azért volt jelentősége, mert így a későbbi szabadalmi igényt nem a kórház tulajdonaként, hanem magántulajdonként jelenthette be, illetve kaphatta meg.
- ^c Tudomásunk szerint az angol „microfabrication” kifejezésnek még nincs magyar fordítása. Jelen szerző még egyik hozzáférhető angol-magyar szótárban (beleértve a műszakiakat is) sem talált rá. Ezért itt a szó szerint fordított „mikrogyártás”-t használjuk.
- ^d Bár a mikrofluidika területe minden fluidumra vonatkozik, jelen dolgozat csak a folyadékok mikrofluidikájával foglalkozik.
- ^e Az angol nyelvű szakirodalomban a miniaturizálásra a „down sizing” (leméretezés) kifejezést is használják.

IRODALOM

- [1] Szabadváry Ferenc, Az analitikai kémia módszereinek kialakulása, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1960.
- [2] F. Szabadváry, History of Analytical Chemistry, Pergamon Press, Oxford, 1966.
- [3] H. A. Laitinen, G. W. Ewing, A History of Analytical Chemistry, American Chemical Society, Division of Chemistry, 1977.
- [4] G. W. Ewing, Analytical Instrumentation Handbook, Marcel Dekker, Inc., New York, 1990.
- [5] Takátsy Gyula, Kísérletes Orvostudomány (1951) 2, 293.
- [6] <http://medical.dictionary.thefreedictionary.com/titration>
- [7] http://en.wikipedia.org/wiki/microtiter_plate
- [8] Roy Manns, History of Microplates, <http://www.plastiquarian.com/index.php?id=13&subid=179>
- [9] J. L. Sever, J. of Immunology (1961) 88, 320.
- [10] H. Zähringer, Laborjournal, <http://www.laborjournal.de>
- [11] J. Burbaum, Chem. in Britain (1998) June, 38.

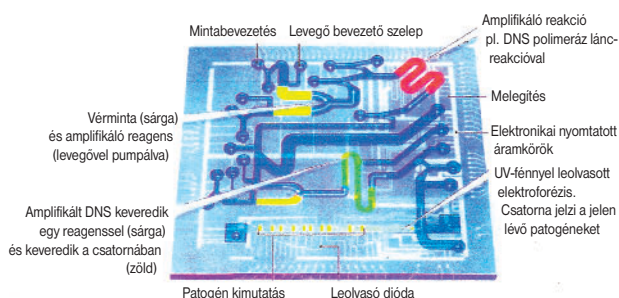
9. ábra. Kereskedelmi forgalmazott analitikai alkalmazású mikrofluidikai lapkák és csatlakozók [31]

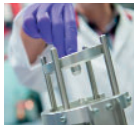
A 9–11. ábra a fentiek szerint kialakított laborkártya-példákat mutat be. Mint látható, egyetlen, zsebben hordható kártya számos analitikai funkciót integrál, miniaturizált hagyományos analitikai laboratóriumként is működhet és elláthat olyan feladatot, amikor nem a mintát viszik a laboratóriumba, hanem a laboratóriumot a mintavételi helyre. Ennek például a környezetvédelemben, nehezen megközelíthető és/vagy veszélyes ipari helyeken, beteg melletti, illetve kórházi vizsgálatok során van különleges jelentősége [28].

Fejlődés és jövőkép

A terület fejlődése a múlt század kilencvenes éveitől kezdődően olyan rohamossá alakult, hogy 2001 óta az egyesült királyságbeli Royal Society for Chemistry kiadásában egy *Lab-on-a-Chip* című folyóirat is megjelenik [29].

10. ábra. Influenza kimutatására alkalmas integrált mikrofluidikai laborkártya [28]





- [12] http://www.laboautopedia.org/mw/index.php/Early_microplate_automation
[13] L. J. Kricka, K. Imai, P. Fortina, *Clinical Chemistry* (2010) 56, 1797.
[14] H. A. Mottola, *Anal. Chem.* (1981) 53, 1312A
[15] L. T. Skeggs jr., *Am. J. Clin. Pathol.* (1957) 28, 311.
[16] L. T. Skeggs, *Current Contents* (1978) 36, 200.
[17] K. K. Stewart, *Anal. Chem.* (1981) 53, 1312A
[18] J. Ruzicka, *Flow Injection Analysis, Tutorial on Flow microanalytical Techniques*, Fourth Edition, 2009, Available free of charge from FIA Lab Instruments, Inc., www.flowinjection.com
[19] T. Braun, W. S. Lyon, *Fresenius Z. Anal. Chem.* (1984) 319, 74.
[20] T. Braun, E. Bujdosó, A. Schubert, *Literature of Analytical Chemistry: A Scientific Evaluation*, CRC Press, Inc., Boca Raton, 1987.
[21] M. J. Madon, *Fundamentals of Microfabrication: The Science of Miniaturization*, CRC Press, Boca Raton, 2002.
[22] O. Reynolds, *Philos. Trans Royal Soc.* (1883) 174, 935.
[23] C. T. Crowe, D. F. Elgar, J. A. Anderson, *Engineering Fluid Mechanics*, Wiley, New York, 2000.
[24] T. McCreedy, *Trends Anal. Chem.* (2000) 19, 396.
[25] P. C. H. Li, *Microfluidic Lab-on-a-Chip for Chemical and Biological Analysis and Discovery*, Taylor & Francis, Boca Raton, 2005.
[26] T. R. Reid, *The Chip: Two Americans Invented the Microchip and Launched a Revolution*, Simon & Schuster, New York, 1984.
[27] <http://www.thinkxxxxs.com/main/producte/microfluidixxxs/html>
[28] Ch. Q. Choi, *Scientific American* (2007) October, 74.
[29] *Lab-on-a-Chip, Miniaturization for Chemistry, Physics, Biology and Bioengineering*, Royal Society of Chemistry, UK, 2001.
[30] N. Jones, *Nature* (2012), 487, 22.
[31] M. D. Symes, Ph. J. Kitson, Jun Ian, C. J. Richmond, G. J. T. Cooper, R. W. Bowman, T. Vilbrandt, L. Cronin, *Nature, Chemistry* (2012) 4, 349.
[32] H. H. Gorris, D. R. Walt, *Angew. Chem. Int. Ed.* (2010) 49, 3880.
[33] K. E. Drexler, *Nanotechnology* (1991) 2, 113.
[34] D. Ericson, D. Li, U. J. Krull, *Anal. Biochem.* (2012) 4, 346.
[35] A. Manz, N. Graber, H. M. Widmer, *Sensors, Actuators* (1990) B1, 244.

Bruckner-termi előadás

Mándity István

■ Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerkémiai Intézet

Nagy hatékonyságú kémiai átalakítások folyamatos áramban: védőcsoport-eltávolítás, deuterálás és organokatalízis

A szintetikus technikák körében egyre nagyobb teret hódítanak a folyamatos áramlásos kémiai (ÁK) eljárások. Ezek számos előnyös tulajdonsággal rendelkeznek a konvencionális szakaszos technikákkal szemben. Példaként említhetjük a reagensek hatékonyabb összekeverését, a gyorsabb hő- és anyagtranszportot és a rövidebb reakcióidőket [1]. A modern ÁK eljárásoknál nem szükséges nagy mennyiségű reagens és oldószer alkalmazása [2], továbbá lehetőség nyílik a fő reakcióparaméterek (áramlási sebesség, hőmérséklet, nyomás) finomhangolására, ezek gyors és pontos ellenőrzésére [3]. Így lehetővé válik a különböző reakciókörülmények idő- és költséghatékony tesztelése; segítségünkre lehet gyógyszereszerű molekulák nagy könyvtárainak ökotudatos előállításában; mindemellett a méretnövelés is könnyen megvalósítható [4]. Az áramlásos kémia egyedülálló és eredményes lehetőséget kínál reakciók gyorsabb kivitelezésére, a nagyfokú szelektivitás pedig igen jó kitermeléseket eredményez [5]. A folyamatos áramú technikák napjainkban jelentős érdeklődésre tartanak számot az alapkutatásban, ám a műszerezettség kialakításá-

nak köszönhetően ipari alkalmazásuk is könnyen kivitelezhető [6].

A legjobb eredményeket a laboratóriumi hidrogénezés területén sikerült elérni. Számos különböző reakcióban – pl. a nitro-, oxim- vagy iminocsoport redukciója, kettős vagy hármas kötés telítése – sikeresen alkalmazható [7]. Ezeket az eredményeket alapul véve kifejlesztettünk egy egyszerű, gyors és hatékony védőcsoport-eltávolítási metodikát ÁK hidrogénező reaktorban. Benzil- és benzilidén védett szénhidrát-molekulák esetén jó eredményeket értünk el olyan származékok esetében is, melyek sav- vagy bázis-érzékeny funkciós csoportot, például acetyl- vagy szilil-védőcsoportot tartalmaztak [8].

Kidolgoztunk egy ÁK deuterálási metodikát, mely sokféle molekula esetén is jól alkalmazható. A reakció Pd- vagy Ni-katalizátorok alkalmazásával H-Cube® ÁK hidrogénező reaktorban zajlik, mely tartalmaz egy szabályozható, D₂-ot nehézvíz elektrolízisével előállító gázgenerátort. Ez a szintézis gyorsabb, mint az eddig leírtak, kisebb a D₂O-igénye, ezáltal a korábbi eljárásoknál nagyobb hatásfokú [9]. A módszert sikeresen alkalmaztuk több kü-

lönböző funkciós csoportot tartalmazó molekula esetén is, tehát igen szelektívnek bizonyult. Kitűnően alkalmaztuk C–C kettős, valamint C–C és C–N hármas kötések esetén is. A kifejlesztett metodikát sikeresen kiterjesztettük nitrogéntartalmú heterociklusos gyűrűk deuterálására is. A reakcióba vitt molekulák között a különféle módon szubsztituált nitrogéntartalmú heterociklusok mellett gyógyszermolekula is szerepelt. A módszer esetén nem kell számolni a szakaszos technikáknál fennálló hátrányokkal, nagy konverzió és jó deuteriumbeépülési arány érhető el [10].

Aszimmetrikus organokatalitikus reakciók segítségével számos C–C kötéskialakítási eljárást dolgoztak ki [11]. Énaminok reakciójában eredményes katalizátornak bizonyult a prolin, alkalmazásával általában megfelelő termelést és enantioszelektivitást sikerült elérni [12]. Míg a kisméretű, merev organokatalizátorok csupán kevés olyan helyet tartalmaznak, mely módosítható, vagy funkcionálisan hangolható, addig a peptidek moduláris felépítése számos lehetőséget teremt a katalizátor optimalizására. Az utóbbi néhány évben számos kutatás témája volt peptidkatalizáto-