

LABORATORNÍ AUTOSAMPLER
LABORATORY AUTOSAMPLER

DIPLOMOVÁ PRÁCE
DIPLOMA THESIS

Ing. JIŘÍ MORAVEC, Ph.D.
VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Vejvoda** Jméno: **Martin** Osobní číslo: **482628**
Fakulta/ústav: **Fakulta strojní**
Zadávající katedra/ústav: **Ústav procesní a zpracovatelské techniky**
Studijní program: **Energetika a procesní inženýrství**
Specializace: **Procesní inženýrství**

II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

Laboratorní autosampler

Název diplomové práce anglicky:

Laboratory autosampler

Pokyny pro vypracování:

V rámci diplomové práce popište funkci a řešení stávajících dostupných modelů laboratorních autosamplerů, jejich výhody a nevýhody. Na základě rešerše navrhnete varianty vlastního koncepčního řešení. Pro zvolenou variantu zpracujte výkresovou dokumentaci a proveďte potřebné procesní, pevnostní a konstrukční výpočty. Pokuste se také odhadnout cenu výsledného zařízení.

Seznam doporučené literatury:

Dle vlastní rešerše a doporučení vedoucího práce.

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) diplomové práce:

Ing. Jiří Moravec, Ph.D. ústav procesní a zpracovatelské techniky FS

Jméno a pracoviště druhé(ho) vedoucí(ho) nebo konzultanta(ky) diplomové práce:

Datum zadání diplomové práce: **17.04.2023** Termín odevzdání diplomové práce: **04.08.2023**

Platnost zadání diplomové práce: **24.09.2023**

Ing. Jiří Moravec, Ph.D.
podpis vedoucí(ho) práce

prof. Ing. Tomáš Jirout, Ph.D.
podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry

doc. Ing. Miroslav Španiel, CSc.
podpis děkana(ky)

III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Diplomant bere na vědomí, že je povinen vypracovat diplomovou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v diplomové práci.

Datum převzetí zadání

Podpis studenta

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma laboratorní autosampler vypracoval samostatně a s použitím uvedené literatury a pramenů.

V Praze, dne 1.6.202

.....

Martin Vejvoda

Poděkování

Děkuji Ing. Jiřímu Moravcovi, Ph.D. za odborné vedení při tvorbě této práce, ochotu vysvětlovat, bezproblémovou a rychlou komunikaci a příjemnou atmosféru v celém procesu.

Anotační list

Jméno autora: Martin

Příjmení autora: Vejvoda

Název práce česky: Laboratorní autosampler

Název práce anglicky: Laboratory autosampler

Rozsah práce: počet stran: 74

počet obrázků: 55

počet tabulek: 9

počet příloh: 13

Akademický rok: 2022/2023

Jazyk práce: čeština

Ústav: Ústav procesní a zpracovatelské techniky

Studijní program: Energetika a procesní inženýrství

Vedoucí práce: Ing. Jiří Moravec, Ph.D.

Anotace česky: Tato práce se zabývá laboratorními autosamplery, komponenty, z kterých jsou složeny, pracovními procesy a konstrukčními řešeními. V konstrukční části je proveden návrh konstrukčního řešení autosampleru a jeho jednotlivých komponent.

Klíčová slova: autosampler, HPLC, nástřikové módy, stříkačková pumpa, vysokotlaký ventil, chlazení autosampleru

Anotace anglicky: This thesis deals with laboratory autosamplers, the components they are made of, work processes and design solutions. Furthermore, the design of the autosampler and its key components was carried out.

Keywords: autosampler, HPLC, injection modes, syringe pump, high-pressure valve, autosampler cooling

Obsah

Úvod	8
Motivace.....	9
Cíl práce.....	9
1 Vhled do problematiky	10
1.1 Základní princip	10
1.2 Názvosloví	10
1.2.1 Čas cyklu	10
1.2.2 Preciznost nástřiku	10
1.2.3 Přesnost nástřiku	10
1.2.4 Eluent.....	11
1.2.5 Vzorkovací smyčka	11
1.3 Využití	11
2 Specifikace pracovních procesů v autosampleru	12
2.1 Pracovní módy	12
2.1.1 Push mód	12
2.1.2 Pull mód	15
2.1.3 Split-loop mód	17
2.2 Nástřik.....	21
2.2.1 Plný nástřik.....	21
2.2.2 Částečný nástřik	22
2.2.3 μ l snímací nástřik	22
2.3 Posuv	23
2.3.1 Ampulka k jehle	24
2.3.2 Jehla k ampulce s pohybem jehly ve třech osách	24
2.3.3 Jehla k ampulce s pohybem jehly ve dvou osách.....	25
2.4 Chlazení.....	25
2.4.1 Peltierův článek.....	26
2.4.2 Chlazení vzduchem	27
2.4.3 Kontaktní chlazení	27
3 Fyzikální děje	28
3.1 Carry-over	28
3.2 Disperze před kolonou.....	28
4 Komponenty	28
4.1 Stříkačková pumpa	29
4.2 Vysokotlaký ventil	29
5 Konkurence a její parametry	31
6 Konstrukce.....	33
6.1 Vstupní požadavky.....	33
6.2 Varianty řešení	34
6.2.1 Původní varianta.....	34
6.2.2 Varianta A.....	35

6.2.3	Varianta B.....	35
6.3	Zvolené řešení.....	36
6.4	Design a konstrukce jednotlivých komponent.....	36
6.4.1	Rozložení komponentů	36
6.4.2	Materiály.....	38
6.4.3	Šasi.....	38
6.4.4	Stříkačková pumpa	40
6.4.5	Chladicí sestava	42
6.4.6	Chladicí modul.....	42
6.4.7	Vysokotlaký ventil.....	44
6.4.8	Posuv jehly	45
6.4.9	Posuv podnosu	47
6.4.10	Jehla	48
6.4.11	Oplach jehly	50
6.4.12	Panel s elektronikou.....	52
6.4.13	Vnější podoba zařízení	52
6.4.14	Připojení autosampleru do HPLC systému	53
6.5	Kontrolní výpočty	54
6.5.1	Nosnost konstrukce	54
6.5.2	Ohyb převisu konstrukce	56
6.5.3	Chlazení.....	58
6.6	Výkresová dokumentace.....	61
6.7	Ovládání autosampleru	62
6.8	Popis funkce z hlediska obsluhy.....	62
6.9	Odhadovaná cena zařízení.....	63
6.10	Srovnání s konkurencí	64
7	Závěr	65
	Použité zdroje a literatura.....	67
	Seznam obrázků.....	71
	Seznam tabulek	73
	Seznam příloh	74

Úvod

V době rychlého a neutuchajícího vývoje je efektivita, přesnost a spolehlivost nedílnou součástí každého oboru. Jinak tomu není ani v analytické chemii, ve které mají právě autosamplery svou nenahraditelnou pozici při manipulaci se vzorky a jejich vstřikováním do měřicích přístrojů. Autosamplery jsou často nedílnou součástí analytických systémů, a právě jejich schopnosti mohou efektivitu, přesnost a spolehlivost celého systému výrazně ovlivňovat k lepšímu i horšímu.

Rešerše práce je věnována fungování konvenčních autosamplerů, metodám, které využívají a komponentům, ze kterých jsou sestaveny. Tyto znalosti jsou nutným základním předpokladem pro úspěšnou konstrukci takového přístroje.

Ve druhé části práce jsou nastíněny dvě variantní řešení autosamplera a jedno z nich je dále rozpracováno do finální podoby autosamplera s výkresovou dokumentací.

Motivace

Tato práce je tvořena ve spolupráci s firmou Ecom spol. s r.o., která se zabývá výrobou laboratorních zařízení pro kapalinovou chromatografii. Jedním z nabízených produktů této společnosti je také analytická HPLC (High-performance Liquid Chromatography – vysokoúčinná kapalinová chromatografie) sestava tvořena UV detektorem, ohříváčem kolon, analytickou pumpou a gradientním boxem. Součástí sestavy je také autosampler, který ale není vyráběn touto firmou a musí být dodáván od subdodavatele. Autosampler je tak posledním přístrojem, který chybí společnosti Ecom spol. s r.o. ke kompletní HPLC sestavě. Pro renomé značky, lepší servisovatelnost a také samostatný prodej by bylo ideální mít svůj vlastní autosampler, který je možno i dlouhodobě vyvíjet a aplikovat na něj poznatky odběratelů.

Cíl práce

Cílem této práce je vytvořit ve spolupráci s Ecom spol. s r.o. autosampler, který bude kompatibilní s analytickým HPLC systémem tohoto výrobce. Nový autosampler by se měl vyznačovat jednoduchostí konstrukce a řešením jednotlivých komponent a zároveň být konkurenceschopný konvenčně vyráběným analytickým autosamplerům menších výrobců.

1 Vhled do problematiky

1.1 Základní princip

Autosampler, nebo automatický vzorkovač, je zařízení, které se využívá pro dodávání a dávkování vzorků z většího množství do systému. V tomto případě konkrétně analytické laboratorní nebo preparativní HPLC autosamplery dodávají vzorky ze zkumavek do systému pod vysokým tlakem, kde dochází k jejich dalšímu využití. Vzorky, které jsou skladovány v malých ampulkách s pryžovým uzávěrem, jsou umístěny do pracovního prostoru přístroje. Pomocí jehly, která propíchně pryž a dostane se tak ke vzorku, se určitý objem vzorku natáhne do smyčky autosampleru a za využití vysokotlakého ventilu se vpustí do systému. [1,2]

1.2 Názvosloví

V praxi spojené s používáním autosamplerů existují některé pojmy, které souvisí se způsobem jejich použití a které budou použity pro další popis funkcí a je tedy dobré je znát.

1.2.1 Čas cyklu

Celkový čas potřebný pro nástřik vzorku do systému. Obsahuje pohyby zařízení pro dosažení nástřikové pozice jehly, natažení vzorku z ampulky, nástřik a promytí zařízení. Čas cyklu lze zkrátit částečným překrytím procesů, pokud to umožňuje konstrukční řešení zařízení. [2]

1.2.2 Preciznost nástřiku

Preciznost nástřiku popisuje rozptyl objemů nastříknutých vzorků během opakovaných nástřiků jako relativní směrodatnou odchylku (RSD) plochy nebo výšky píku. Jinými slovy by se preciznost nástřiku dala popsat jako jeho opakovatelnost. [2]

1.2.3 Přesnost nástřiku

Přesnost nástřiku popisuje odchylku reálného objemu nástřiku od požadovaného objemu. Přesnost je v praxi méně relevantní než opakovatelnost, protože kalibrace se provádí v kvantitativní analýze HPLC. [2]

1.2.4 Eluent

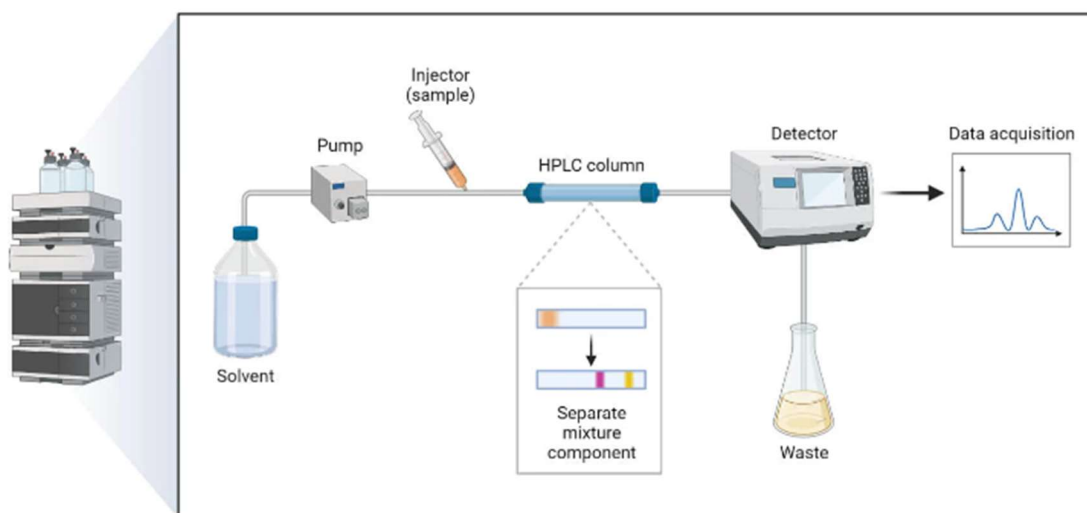
Eluentem se nazývá mobilní fáze, která je použita pro separaci vzorků v systému. Mobilní fáze v kapalinové chromatografii je kapalina, která unáší složky směsi. Konkrétní kapalina pro takové využití se vybírá primárně podle vzorků, které má dopravovat systémem a dále také podle fyzikálních a chemických vlastností. Příkladem eluentu může být metanol (CH_3OH) nebo acetonitril (CH_3CN). [35]

1.2.5 Vzorkovací smyčka

Vzorkovací smyčka je trubička o přesně daném a známém objemu, která je připojena vysokotlakými armaturami k vysokotlakému ventilu autosampleru. Její přesné využití závisí na pracovním módu autosampleru, ale ve vše variantách zapojení funguje jako zásobník, do kterého je dopraven nastříkovaný vzorek a po přepnutí ventilu prochází smyčkou hlavní oběh systému a vzorek je tak nosným eluentem plaven do dalšího zařízení. Vzorkovací smyčka se vyrábí převážně z nerezové oceli a převážně jsou využívány smyčky o objemech 20 až 100 μl . [36]

1.3 Využití

Autosamplery různých technických řešení se využívají pro analytické i preparativní účely. Jejich hlavním rozdílem je pracovní objem. Mezi hlavní využití patří kapalinová chromatografie. Na obrázku 1 je znázorněna podoba takového systému. Obrovskou výhodou moderních autosamplerů je dobrá přesnost a vysoká opakovatelnost vzorkování. Konkrétně se autosamplery využívají ve výrobě léčiv, k forenzním analýzám, inspekcím potravin a různým dalším chemickým rozborům. [3]



Obrázek 1 - Schéma HPLC systému [3]

2 Specifikace pracovních procesů v autosampleru

2.1 Pracovní módy

Ve fungování jednotlivých autosamplérů jsou poměrně výrazné rozdíly, a to i přesto, že klíčové komponenty, ze kterých jsou sestaveny, se od sebe nijak výrazně neliší. Hlavním rozdílem je právě pracovní mód, který definuje silné a slabé stránky přístroje, technické nároky a vhodné využití. Existují tři základní a využívané módy: push mode, pull mode, split-loop mode.

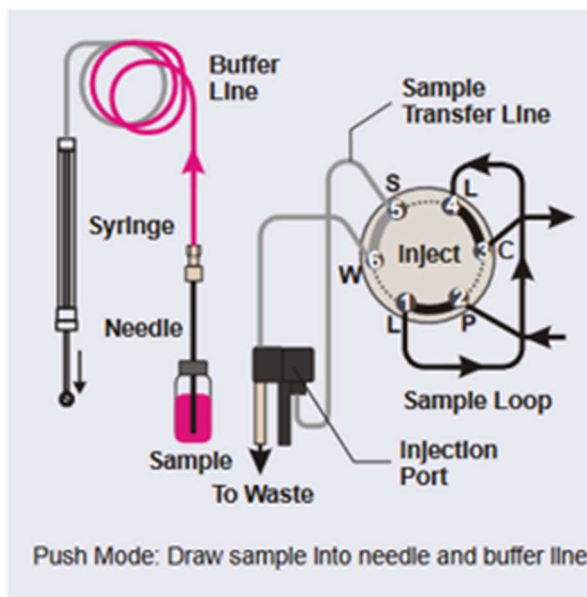
2.1.1 Push mód

Princip fungování autosampléru v módu push je výrazně podobný s manuální prací pomocí injekční stříkačky. Označení push (tlačit) indikuje, že k plnění vzorkovací smyčky se využívá tlak generovaný stříkačkovou pumpou. Princip push módu je znázorněn na obr. 2 až 5. [1]

Zatímco je ventil v pozici plnění, stříkačková pumpa natahuje vzorek do vyrovnávací smyčky. V mezičase nedochází k zastavení proudění v celém HPLC systému, ale je skrz vysokotlaký ventil a vzorkovací smyčku veden mimo ostatní komponenty autosampléru. Po natažení vzorku se jehla přesune do nízkotlakého portu, skrz který je tlakem stříkačkové pumpy plněna vzorkovací smyčka. Po jejím naplnění se ventil přepne do pozice vstřikování, tím zapojí vzorkovací smyčku do celého HPLC oběhu a vzorek proudí dál do systému. [1,4]

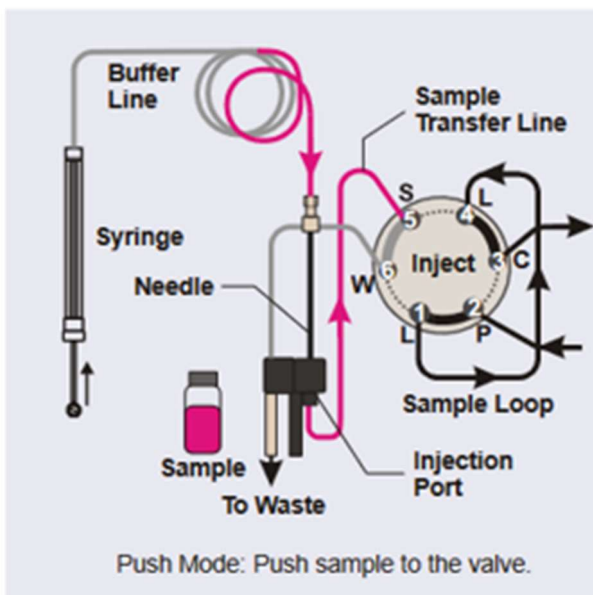
Postup:

1. Najetí do pozice, kdy je jehla nad ampulkou.
2. Natažení vzorku pomocí stříkačkové pumpy do vyrovnávací smyčky.



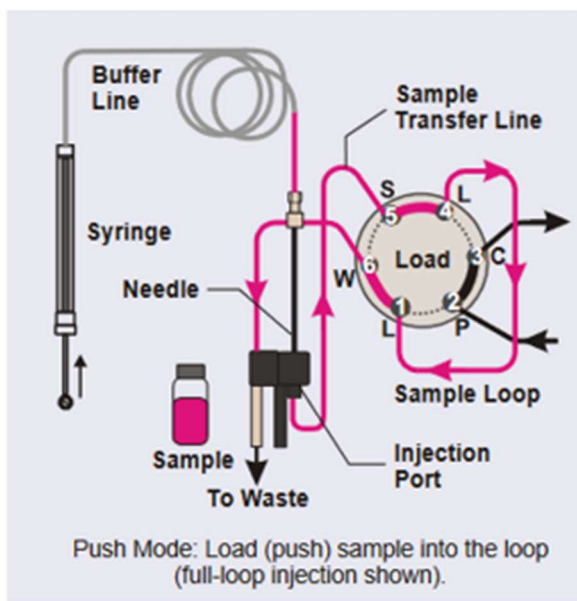
Obrázek 2 - Push mód při natažení vzorku pomocí stříkačkové pumpy do vyrovnávací smyčky [4]

3. Přesun jehly do vstřikovacího portu.
4. Stříkačková pumpa vytlačí vzorek z vyrovnávací smyčky a jehly k ventilu. Ventil stále v pozici „inject“.



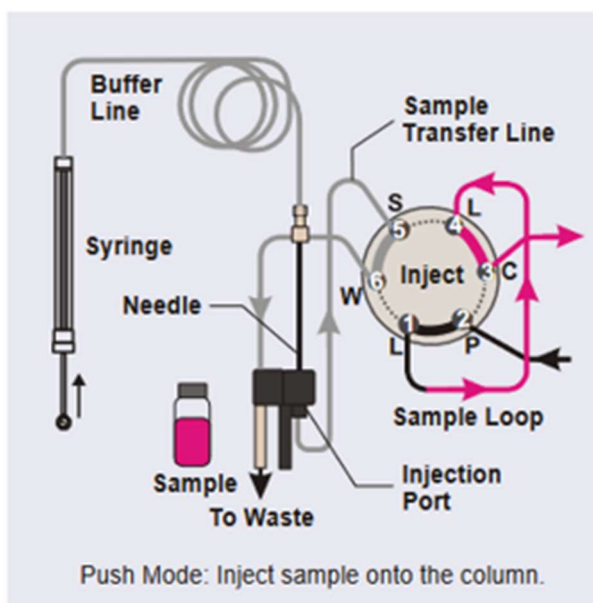
Obrázek 3 - Push mód při vytlačení vzorku z vyrovnávací smyčky k ventilu [4]

- Otočení ventilu do pozice „load“. Stříkačková pumpa dál tlačí vzorek do vzorkovací smyčky.



Obrázek 4 - Push mód při otočení ventil a plnění vzorkovací smyčky [4]

- Ventil se přepne do pozice „inject“ – vzorkovací smyčka je v tuto chvíli součástí oběhu do kolony a vzorek je tlačěn proudem na kolonu.



Obrázek 5 - Push mód při nástřiku [4]

Výhodou využití push módu je primárně minimalizování spotřeby vzorku, jelikož většina nataženého vzorku se dostane do vzorkovací smyčky, a tedy i dále do systému. Dalšími výhodami je přesnost a dobré využití pro práci s viskózními kapalinami. Nevýhodou tohoto řešení je primárně čas celého cyklu, který je vyšší než u alternativních metod. Další nevýhodou může být potřeba portu pro vytlačení

vzorku z vyrovnávací smyčky skrz jehlu do vzorkovací smyčky. Oproti pull módu toto řešení obsahuje právě port a také vyrovnávací smyčku, čímž se kromě množství komponentů také zvyšuje riziko případných netěsností, nutnosti výměny apod. [1,4]

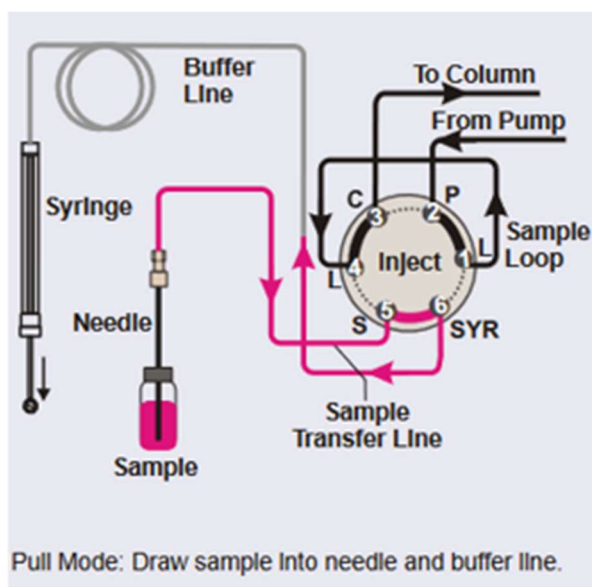
2.1.2 Pull mód

V případě pull módu se vzorek do vzorkovací smyčky natahuje pomocí podtlaku generovaného stříkačkovou pumpou. Jednotlivé kroky celého cyklu v tomto módu jsou popsány v postupu a znázorněny na obrázcích 6 až 9.

Cesta vzorku je zde z ampulky rovnou do vzorkovací smyčky, která je umístěna mezi jehlou a stříkačkovou pumpou díky ventilu v pozici plnění. Po naplnění vzorkovací smyčky se ventil přepne do pozice vstřikování a vzorkovací smyčka se tak dostane do oběhu celého HPLC systému. [4]

Postup:

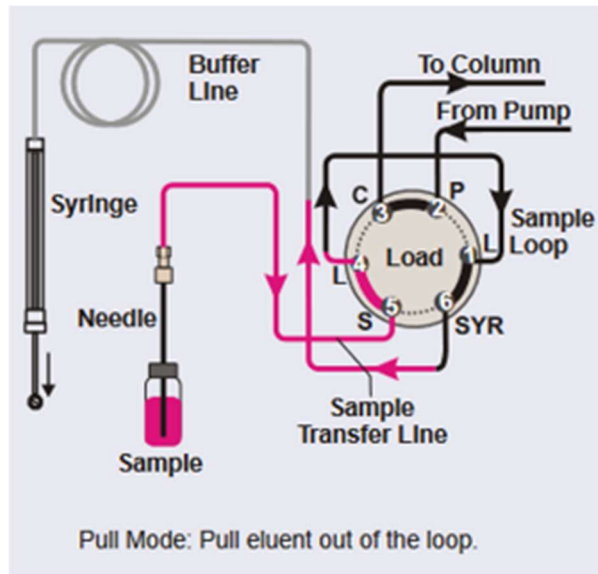
1. Najetí jehly nad vialku.
2. Ventil v pozici „inject“. Stříkačková pumpa natahuje vzorek do buffer smyčky. Zároveň oběh na kolonu proudí skrz vzorkovací smyčku a ta je tak propláchnuta od zbytků a nečistot.



Obrázek 6 - Pull mód při natažení vzorku [4]

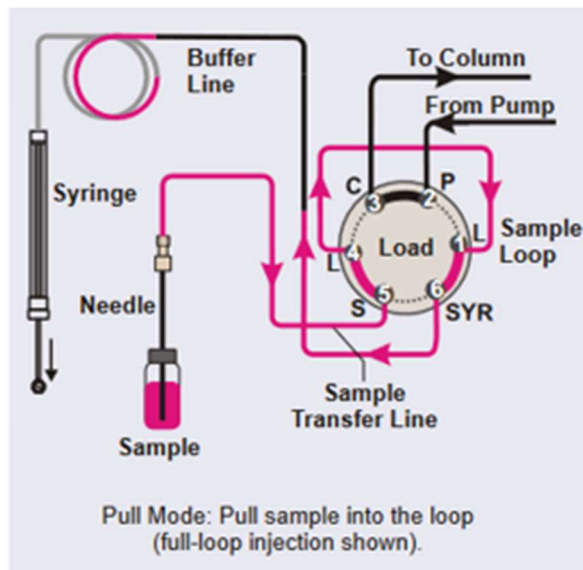
3. Ventil přepnut do pozice „load“.

4. Stříkačková pumpa dále natahuje vzorek. Ten proudí přes vzorkovací smyčku, kterou celou naplní, do buffer smyčky.



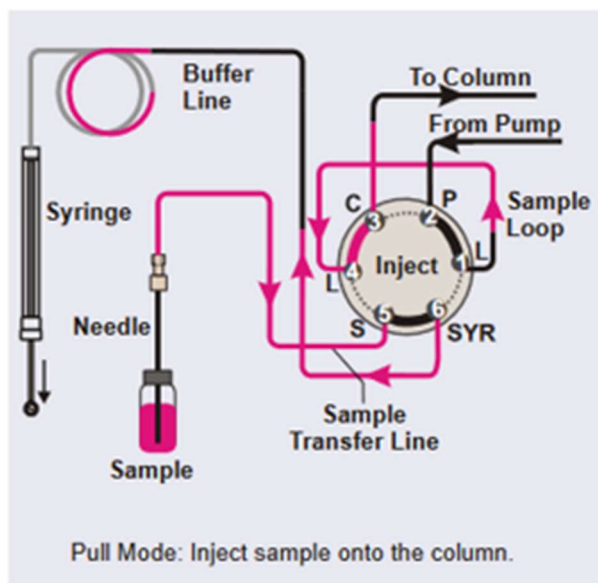
Obrázek 7 - Pull mód při plnění vzorkovací smyčky [4]

Ze vzorkovací smyčky vytlačí vzorek eluent, který tam zůstal od proudění na kolonu při pozici „inject“.



Obrázek 8 - Pull mód po dokončení natažení vzorku [4]

5. Přepnutí ventilu do pozice „inject“. Vzorek je ze vzorkovací smyčky unášen na kolonu.



Obrázek 9 - Pull mód po přepnutí ventilu do pozice "inject" [4]

Výhodou využití tohoto módu je kratší čas nástřikového cyklu, absence portu pro jehlu a menší příspěvek k disperzi před kolonou. Čas nástřikového cyklu se ale v případě potřeby snížení křížové kontaminace (carry-over) prodlouží z důvodu náročnosti na proplachování. Vzhledem k nižšímu počtu komponentů je toto řešení jednodušší a levnější na výrobu a údržbu. Hlavní nevýhodou je velká spotřeba vzorku, kdy je v případě nástřiku celé vzorkovací smyčky potřeba až trojnásobek vstřikovaného objemu. [1,4]

2.1.3 Split-loop mód

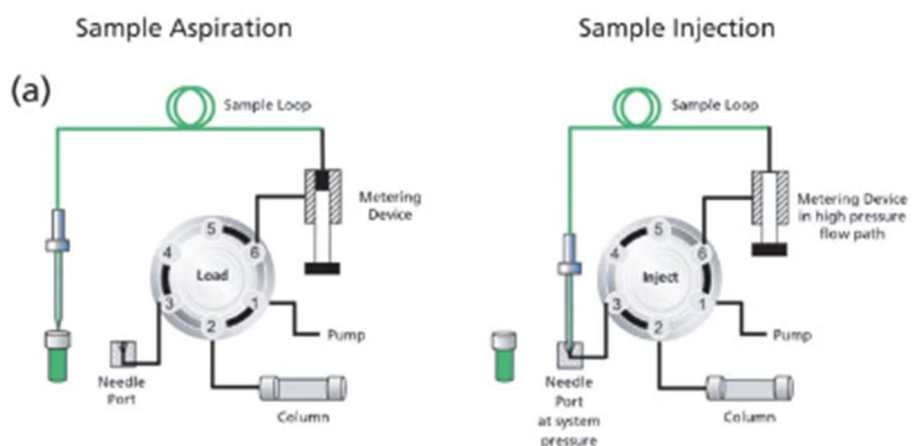
Split-loop mód využívá jehlu jako část vzorkovací smyčky, a tedy i jako část oběhu od pumpy HPLC systému na kolonu. V dnešní době se jedná o nejmodernější a nejrozšířenější řešení autosamplerů. Pro propojení jehly a oběhu HPLC systému je potřeba vysokotlaké těsnění portu jehly. [1]

Tento mód je nejlepší pro aplikace, kde je klíčové využití malého množství vzorku. Další nemalou výhodou je čas cyklu, který bývá u autosamplerů s tímto módem nejkratší. Nevýhodou je využívání zabudovaných vzorkovacích smyček, které jsou dražší a často mají maximální objem 100 μl . Na rozdíl od push nebo pull módů nelze jednoduše vyměnit vzorkovací smyčku za jinou s požadovaným objemem. Systém je zároveň velice náchylný na opotřebování, a to primárně vysokotlakého těsnění portu jehly, které je jeho nejslabším místem a často definuje maximální možný pracovní tlak celé kolony. [5,6]

Jelikož je vstřikovací smyčka společně s jehlou součástí vysokotlakého okruhu HPLC systému, pojí se k tomuto módu dvě možná technologická řešení stříkačkové pumpy.

a) Stříkačková pumpa součástí vysokotlakého oběhu

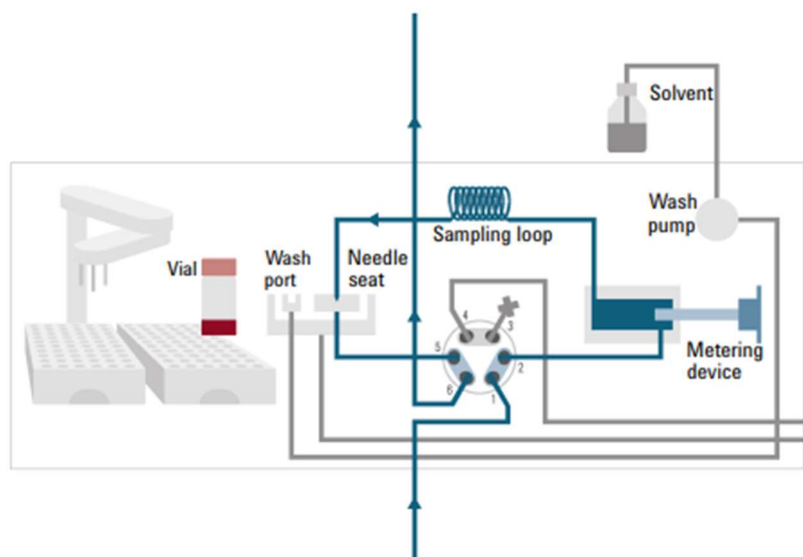
Stříkačková pumpa je při tomto zapojení znázorněném na obrázku 10 součástí vysokotlakého oběhu. Výhodou je preciznost nástřiku a zároveň konstantní zaplavení pumpy, což brání akumulaci vzduchových bublin. Díky proudění média skrze všechny komponenty, které přijdou do styku se vzorkem, je také výrazně sníženo riziko křížové kontaminace, jelikož tak dojde k vypláchnutí celého systému před natažením dalšího vzorku. Detailnější popis nástřikového cyklu v tomto módu je uveden v postupu společně se schémata pro jednotlivé kroky na obrázcích 11 až 14.



Obrázek 10 - Schéma kroků split-loop módu se stříkačkovou pumpou ve vysokotlakém oběhu [1]

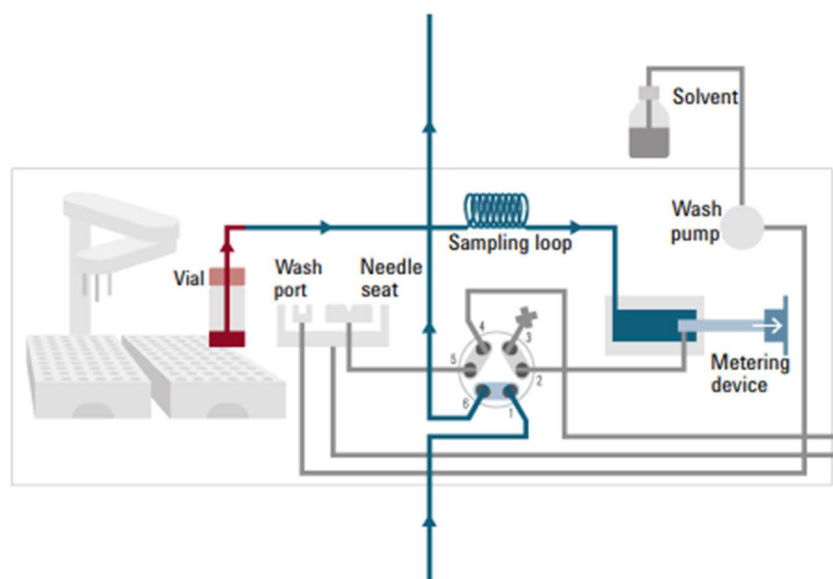
Postup:

1. Před začátkem vstřikovacího cyklu je ventil v hlavní pozici a médium proudí skrz jehlu, vzorkovací smyčku a stříkačkovou pumpu. Všechny komponenty jsou tak propláchnuty před samotnou sekvencí nástřiku.



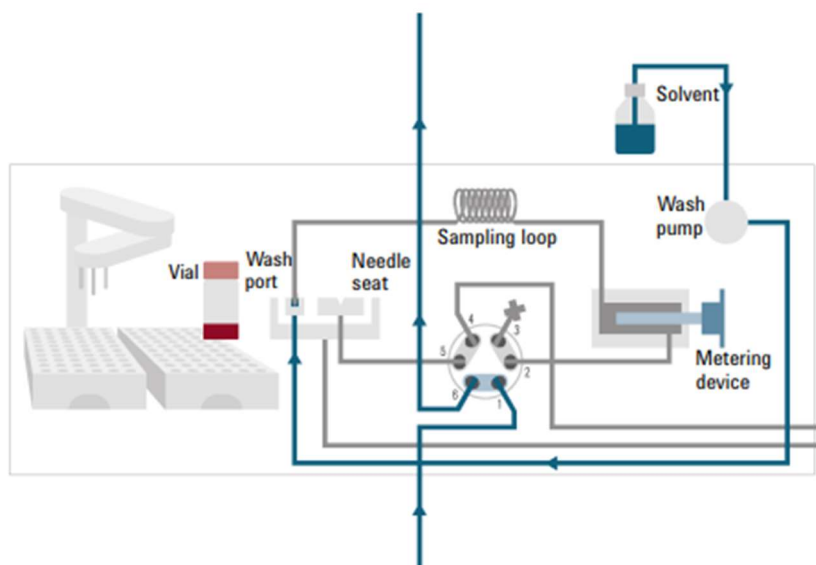
Obrázek 11 - Split-loop mód, výchozí postavení před cyklem [7]

- Na začátku cyklu se ventil přepne do polohy bypass a médium tak proudí pouze skrze ventil a poté hned pryč z autosampleru. Jehla tak může opustit port.



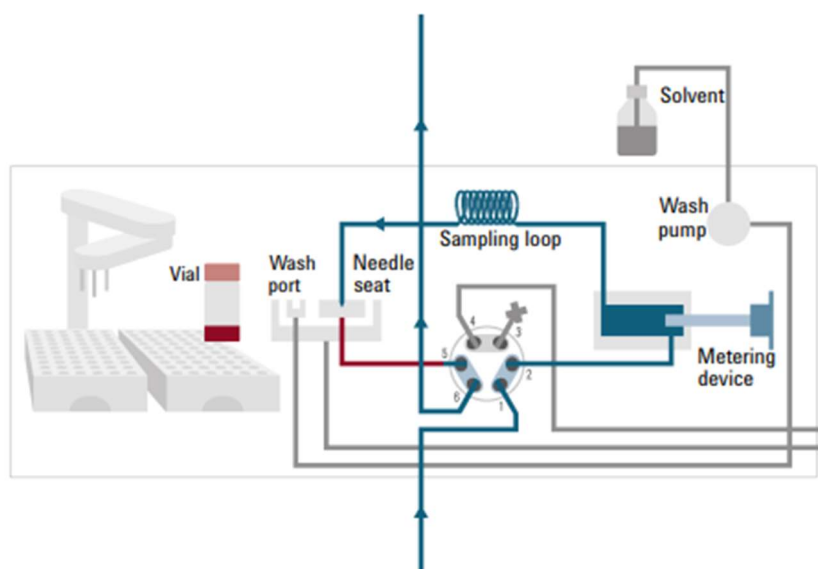
Obrázek 12 - Split-loop mód, ventil v poloze bypass a natažení vzorku [7]

- Stříkačková pumpa natáhne pomocí jehly vzorek z ampulky do vzorkovací smyčky. Jehla se pak přemístí do oplachového portu, aby nedošlo ke kontaminaci při příštím cyklu.



Obrázek 13 - Split-loop mód, jehla v oplachovacím portu [7]

4. Poté se jehla vrátí do původního portu a propojí tak vzorkovací smyčku a stříkačkovou pumpu s ventilem. Ventil se přepne do hlavní polohy (vstřikování) a tím se jehla, vzorkovací smyčka a stříkačková pumpa dostávají do vysokotlakého oběhu HPLC systému a proudící médium unáší vzorek ze smyčky dále na kolonu. [7]

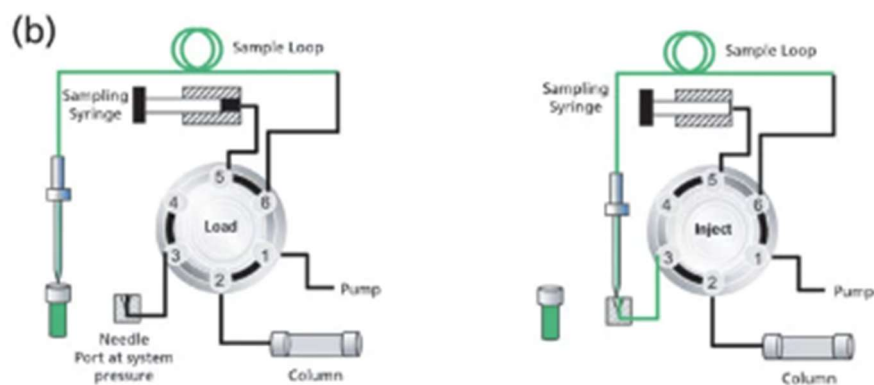


Obrázek 14 - Split-loop mód, jehla ve vysokotlakém portu a nástřik vzorku [7]

b) Stříkačková pumpa mimo vysokotlaký oběh

V této variantě split-loop módu, na obrázku 15, je stříkačková pumpa mimo vysokotlaký oběh a tvoří tak slepou uličku. Výhoda tohoto řešení je menší doba zdržení vzorku, a to zejména pro využití

k vysoce výkonným screeningovým metodám (HTS – High-throughput screening). Nevýhodou je nutnost jiných opatření proti tvorbě vzduchových bublin ve slepé uličce stříkačkové pumpy, z čehož například plyne nutnost využití odplyněných kapalin. Postup je v případě tohoto zapojení obdobný jako v případě varianty se stříkačkovou pumpou ve vysokotlakém oběhu. [1]



Obrázek 15 - Schéma kroků split-loop módu se stříkačkovou pumpou mimo vysokotlaký oběh [1]

2.2 Nástřik

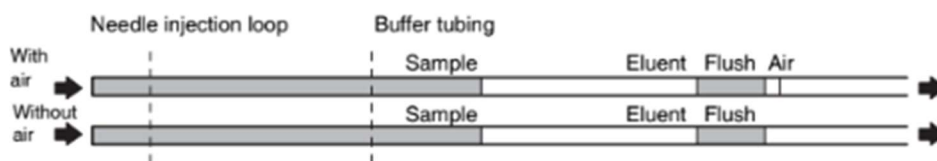
Varianta nástřiku udává, jestli je k jeho provedení využita celá vzorkovací smyčka nebo pouze její část, z čehož se pak také odvíjí variabilita možných objemů proudících z autosampleru do systému. Existují 3 základní varianty: využití celé smyčky (full-loop), využití pouze části smyčky (partial-loop) a μL snímací nástřik (μL pick-up). Zvolená varianta injekce je primárně otázkou softwarového řešení, kdy u většiny autosamplerů lze volit mezi těmito způsoby dle potřeby. [1]

V jednotlivých variantách nástřiku lze také využít vzduchové bubliny o objemu několika μl , která předchází nataženému vzorku. Bublina se tak nedostane do nástřiku, ale odděluje nosnou kapalinu a vzorek, díky čemuž dochází k omezení rozředění vzorku nosnou kapalinou. Srovnání pořadí částí bez využití a s využitím vzduchové bubliny je znázorněno na obrázcích 16 až 18. [9]

2.2.1 Plný nástřik

Při injekci objemu odpovídajícího celé vzorkovací smyčce dochází k zaplnění celé vzorkovací smyčky vzorkem, jak je vidět na obrázku 16. Výhodou je vysoká opakovatelnost nástřiku. Nevýhodou je limitace na objem právě instalované smyčky, kterou je potřeba vyměnit v případě, že je potřeba nástřiku

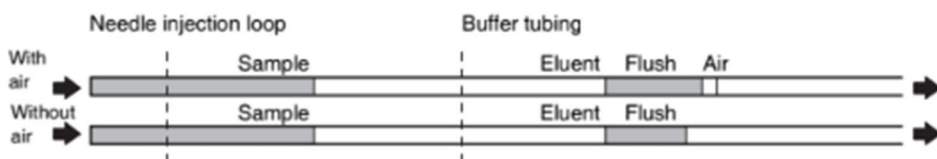
jiného objemu touto metodou. Další nevýhodou je pak využití většího objemu vzorku, protože autosampler často natahuje až třínásobek objemu smyčky pro bezchybné zajištění dokonalého zaplnění smyčky vzorkem. [8]



Obrázek 16 - Rozložení kapalin v potrubí při plném nástřiku [9]

2.2.2 Částečný nástřik

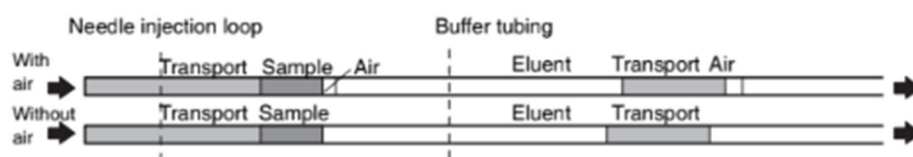
Při využití částečného nástřiku je využita pouze část objemu vzorkovací smyčky. Na obrázku 17 lze pozorovat, jaký má tato skutečnost vliv na rozložení kapalin v potrubí. Výhodou je vysoká přesnost a menší spotřeba vzorku. Ušetření vzorku je jednak z důvodu menšího nástřikovaného objemu, ale také protože při využití částečného nástřiku není potřeba takové množství vzorku navíc pro přeplnění smyčky a zajištění jistoty celého naplnění. [8]



Obrázek 17 - Rozložení kapalin v potrubí při částečném nástřiku [9]

2.2.3 μ L snímací nástřik

Snímací nástřik využívá nosnou kapalinu, kterou nabírá jehla většinou z jiné ampulky. Na obrázku 18 jsou vidět části, které zaplňuje transportní kapalina a nahrazuje tak větší objem vzorku, který by jinak byl na jejím místě. Tento způsob nástřiku plně redukuje plýtvání vzorkem, jelikož všechny natažený vzorek je využit dále k nástřiku. Výhodou tohoto řešení jsou tedy nulové ztráty vzorku a vysoká přesnost. Nevýhodou je primárně o něco nižší opakovatelnost. [8]

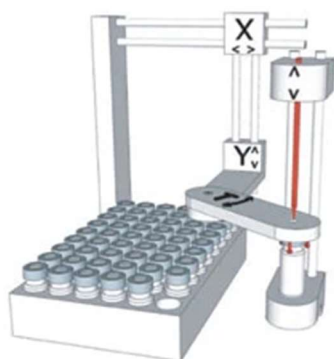


Obrázek 18 - Rozložení kapalin v potrubí při μ L snímacím nástřiku [9]

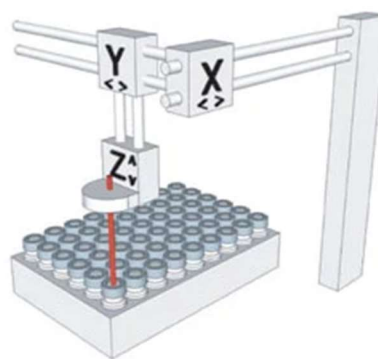
2.3 Posuv

Autosampler je složený ze dvou hlavních jednotek, a to je prostor pro ampulky se vzorky a injekční zařízení, ke kterému patří také potrubní síť a zařízení pro oplach jehly. Pro součinnost těchto dvou jednotek existují dva možné konstrukční přístupy, které jsou i s různými variantami vidět na obrázku 19, díky kterým se vzorek dostane z úložného prostoru, skrze jehlu a ventil až do vzorkovací smyčky. Jedním z nich je přístup nazývaný „ampulka k jehle“ (vial-to-needle) a druhým je inverzní přístup popisovaný jako „jehla k ampulce“ (needle-to-vial). Tato dvě konstrukční řešení jsou kompatibilní se všemi třemi uváděnými pracovními metodami autosampleru, ačkoliv pro některé jsou vhodnější než pro ostatní. V případě řešení „jehla k ampulce“ lze dále tuto kategorii rozdělit na autosamplery, které využívají pouze pohybu jehly ve všech osách a na autosamplery, které kombinují posun jehly s posunem podnosu s ampulkami. [1]

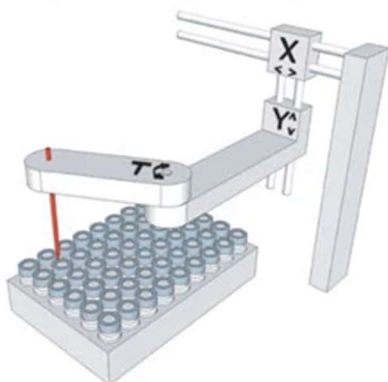
(a) Vial-to-needle configuration



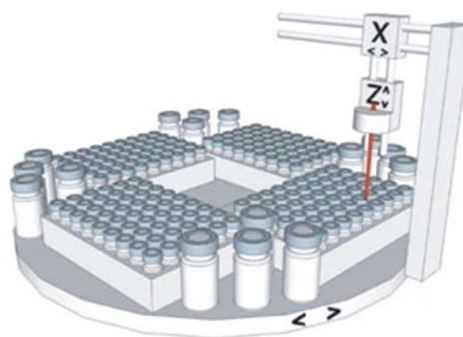
(b) Needle-to-vial configuration
(b1) Static tray with xyz



(b2) Static tray with xy theta



(b3) Sample carousel with xz drive



Obrázek 19 - Konstrukční řešení pohybu jehly [1]

2.3.1 Ampulka k jehle

Řešení posuvu ampulky k jehle (obrázek 19a) využívá robotickou ruku, která uchopí ampulku ze zásobníku a přemístí ji na určené místo pod jehlu. Po natažení vzorku jehlou vrátí robotická ruka ampulku zpět na své místo a uvolní tak prostor pro jehlu. Toto řešení se využívá primárně pro split-loop pracovní mód, kdy se jehla po odejmutí ampulky posune dolů do vysokotlakého portu a spojí tak vzorkovací smyčku. V tomto designu vykonává jehla pouze horizontální pohyb v jedné ose, což výrazně snižuje mechanické namáhání vysokotlakého těsnění jehly a také umožňuje větší flexibilitu z hlediska objemu vzorkovací smyčky v případě využití split-loop pracovního módu. Dalším přínosem může být zatřesení ampulkou pomocí robotické ruky, a tedy zlepšení homogenity vzorku před nástřikem. Obrovskou nevýhodou jsou ale delší nástřikové cykly a také nekompatibilita s mikrotitračními destičkami. [1]

2.3.2 Jehla k ampulce s pohybem jehly ve třech osách

Jiným přístupem je využití pohybu jehly k ampulce se vzorkem, kdy nedochází k žádné manipulaci se samotnými ampulkami a jehla vykonává pohyb ve všech třech osách. Proto může být toto řešení také kompatibilní s mikrotitračními destičkami. Pohyb v tomto případě vykonává pouze jehla, která využívá dvě osy pro přesun mezi ampulkami a také horizontální posuv pro zajištění do ampulky se vzorkem. Toto konstrukční řešení se také označuje jako „x-y-z“ (viz. obrázek 19b1). V takovém případě pohánějí dva krokové elektromotory řemenový nebo šroubový mechanismus posuvu a horizontální posuv zajišťuje třetí krokový motor, který se pohybuje společně s odběrovou jehlou.

Další možností je posuv označovaný jako „x-y-théta“ (obrázek 19b2), který nahrazuje pohyb v ose y rotačním pohybem ramena. Krokové motory a řemenové či šroubové mechanismy zajišťují pohyby v osách x-y a také rotační pohyb. Tato konfigurace zajišťuje největší kompaktnost přístroje.

Tato dvě řešení pohybu jehly ve třech osách přináší kratší dobu nástřikového cyklu než řešení „ampulka k jehle“. Zároveň jsou komponenty této konstrukce nejvíce mechanicky namáhané kvůli rychlým posunům jehly a krokovému motoru, který se musí pohybovat společně s jehlou. [1]

2.3.3 Jehla k ampulce s pohybem jehly ve dvou osách

Alternativou k pohybu jehly ve třech osách je kombinace pohybů jehly a pohybu podnosu s ampulkami.

Jedním z možných řešení je otočný zásobník s ampulkami, který nahrazuje pohyb v ose y jehly (obrázek 19b3). Pohyb jehly je tak zjednodušen pouze na osy x a z, a nejdelší vzdálenost, kterou musí jehla urazit, je od sedla jehly k poloze nejbližší ose karuselu. Nevýhodou tohoto řešení je neefektivní využití prostoru, jelikož uprostřed otočného zásobníku vzniká nevyužitý prostor, a tedy dochází ke snížení poměru kapacity ampulek k velikosti úložného prostoru. Zároveň je toto řešení komplikovanější na udržování konstantní teploty.

Dalším možným řešením je pohyb zásobníku s ampulkami v přímém směru a tím odebrání potřeby pohybu jehly v jedné ose. Stejně jako u otočného zásobníku je potřeba o něco větší prostor pro pohyb podnosu než v případě pohybu jehly ve všech třech osách. Výhoda přímého pohybu podnosu oproti použití rotačního zásobníku se ukazuje při využití chlazení proudícím vzduchem, kdy se může celý pohyb podnosu odehrávat uvnitř chladičového tunelu.

Obě konstrukční řešení využívající pohyb jehly pouze ve dvou osách doplněný o pohyb zásobníku umožňují nejkratší nástřikové cykly a pohybové mechanismy jsou méně mechanicky namáhány než v případě trojosého pohybu jehly. Díky pohybu zásobníku s ampulkami je, stejně jako u využití robotického ramena, možné vzorky protřepat a zajistit tak jejich homogenitu před nástřikem. [1]

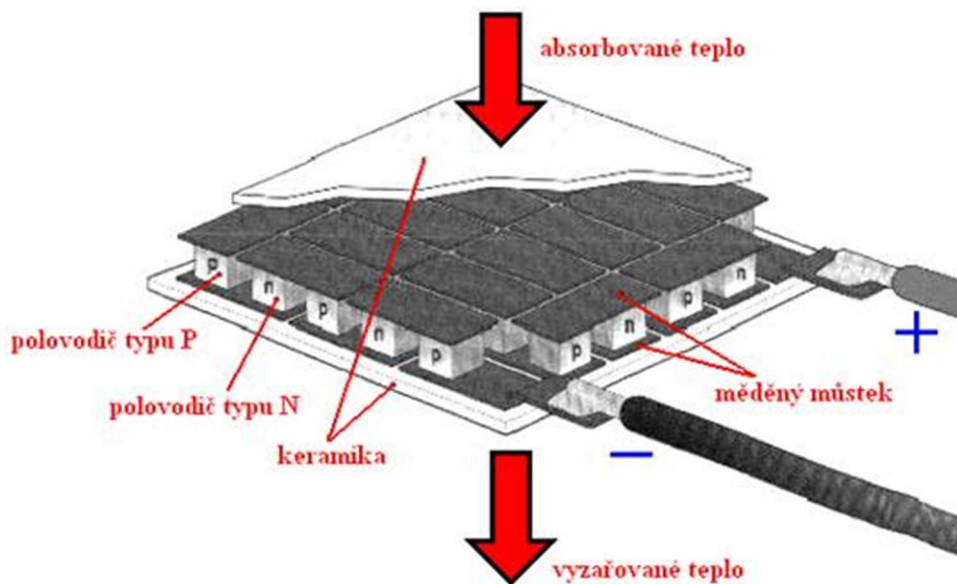
2.4 Chlazení

V závislosti na zamýšleném využití autosampleru může být chlazení jeho důležitou součástí. Pro dobrou opakovatelnost nástřiku může být například důležité udržet vzorky těkavějšího charakteru v konstantní teplotě po celou dobu. Vzorky obsahující biologickou složku může být potřeba držet na co nejnižší teplotě, aby se co nejvíce zpomalovala biologická aktivita, růst mikroorganismů nebo probíhající chemická reakce. Typickým spodním teplotním limitem pro autosamplery jsou 4 °C, protože nižší teploty často způsobují problémy spojené s kondenzací vlhkosti a tvorbou námraz. Chlazení je ve většině moderních autosamplerů řešeno za využití Peltierových článků. [1]

2.4.1 Peltierův článek

Peltierův článek funguje na principu Peltierova jevu, kdy vzniká tepelný tok na spojení dvou různých materiálů. Pomocí tohoto efektu dochází k přenosu tepla z jedné strany zařízení na druhou za spotřeby elektrické energie. Hlavním využitím Peltierova článku je chlazení, ale lze ho využít i pro ohřev nebo udržování konstantní teploty.

Konstrukce článku, která je znázorněna na obrázku 20 obsahuje střídavě řazené polovodiče typu N a P, které jsou pájené mezi měděné můstky, které jsou vsazené mezi keramické desky, a tvoří tak sériové zapojení co se elektriny týče, ale paralelní zapojení z tepelného hlediska. Nejčastěji využívanými materiály jsou pevné roztoky telluridu bismutitého (Bi_2Te_3) a antimonitého (Sb_2Te_3) a selenidu bismutitého (Bi_2Se_3). Výsledný chladicí výkon zařízení je závislý na počtu použitých článků. [10,11]



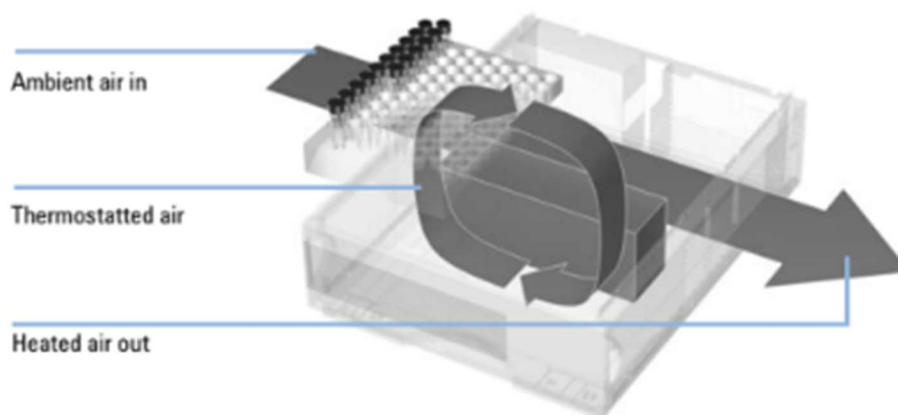
Obrázek 20 - Schéma Peltierova článku [10]

Hlavní výhodou Peltierových článků je dlouhá životnost, jednoduchá ovladatelnost, malé rozměry, nízká hmotnost a schopnost chladit hluboko pod okolní teplotu. Tyto pozitivní přínosy jsou ale vykoupeny omezenou energetickou účinností ve srovnání s ostatními konvenčními systémy využívajícími kompresi par a také omezením celkového tepelného toku, který jsou schopny generovat na jednotku plochy. [11]

2.4.2 Chlazení vzduchem

Jedním z využívaných principů je chlazení vzorků pomocí vzduchu proudícího prostorem s ampulkami. Náročnost tohoto řešení obecně spočívá v utěsnění prostoru izolací vůči vnějším vlivům.

Výrobce Agilent Technologies využívá pro některé své autosamplery přídavný termostat, který obsahuje tepelné výměníky s využitím Peltierových článků. Schéma fungování termostatu lze pozorovat na obrázku 21. Termostat vysává vzduch z oblasti nad vzorky a tlačí ho skrz chladicí modul. V termostatu dochází k ochlazení vzduchu, který dále proudí zespodu mezi ampulkami se vzorky.



Obrázek 21 - Schéma chlazení s přídavným termostatem [7]

Výrobce Waters využívá řešení na podobném principu, ale bez využití přídavného modulu, a tedy jednodušší po konstrukční stránce. Chladicí modul s Peltierovým článkem je umístěn na zadní straně přístroje odkud proudí ochlazený vzduch do prostoru se vzorky. [9]

2.4.3 Kontaktní chlazení

Poslední využívaný princip pro chlazení vzorků využívá hliníkové bloky jako teplotní jímku, která odvádí teplo ze systému. Tyto bloky jsou umísťovány převážně pod podnosy se vzorky, tak aby byly ampulkám co možná nejbližší. Toto řešení umožňuje otevřenější design a rychlejší chlazení. Jeho nevýhodou je ale kondenzace vlhkosti vzduchu v místě uložených vzorků. [1]

3 Fyzikální děje

3.1 Carry-over

Jako carry-over se označuje jev, kdy se stopová množství předchozího vzorku nebo jiné kapaliny přenesou do následných nástřiků a analýz. K tomu dochází při nedokonalém čištění nebo nedostatečnému propláchnutí systému mezi nástřiky.

Konkrétních příčin pro carry-over může být široká škála, ale nejčastěji vzniká díky přilnutí vzorku ke vnější straně jehly. Proto musí být nedílnou součástí moderního autosampleru oplach jehly, který tento jev eliminuje nebo alespoň snižuje jeho dopad k přijatelným mezím.

Kromě možnosti procesu oplachu jehly také závisí na použitém promývacím rozpouštědle, které ale nelze stanovit obecně, ale musí se pro každou aplikaci zvlášť zvažovat jaký roztok použít. Dalším důležitým opatřením pro potlačení carry-over jsou tzv. prázdné nástřiky, kdy se provádí celý cyklus nástřiku, ale místo vzorku se použije nosný roztok. [12]

3.2 Disperze před kolonou

Disperzí před kolonou se nazývá jev, při kterém dochází k rozptylu částic vzorku předtím, než vstoupí do kolony. K disperzi dochází vlivem potrubí a armatur spojujících autosampler a kolonu. Tento jev vede k rozšíření píku a snížení rozlišení separace, a proto je nutné ho minimalizovat.

Disperzi před kolonou lze minimalizovat využitím krátkého potrubí s malým průměrem a také armatur s minimálním mrtvým objemem. [13,14]

4 Komponenty

Jak už bylo zmíněno, klíčovými komponentami, které jsou součástí autosampleru, jsou stříkačková pumpa a vysokotlaký ventil. Tyto dvě komponenty obsahují v různých provedeních a modifikacích téměř všechny laboratorní autosamplery.

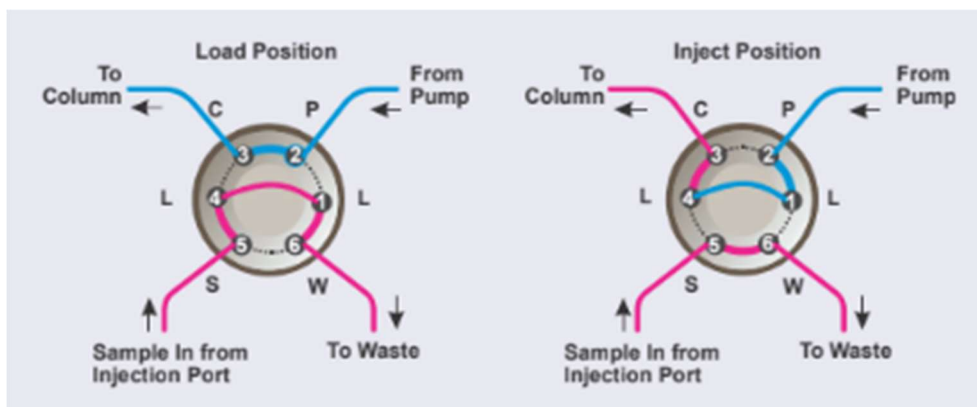
4.1 Stříkačková pumpa

Stříkačková pumpa je zařízení, které zajišťuje natažení přesného množství vzorku z ampulky přímo do vzorkovací smyčky nebo případně jeho natlačení do smyčky. Pomocí ovládání stříkačkové pumpy se stanovuje objem nástřiku. Nedoporučuje se využívat nástřikový objem menší než 10 % pracovního objemu stříkačkové pumpy. V ideálním případě je možno měnit samotnou stříkačku a tím i modifikovat pracovní objem pumpy.

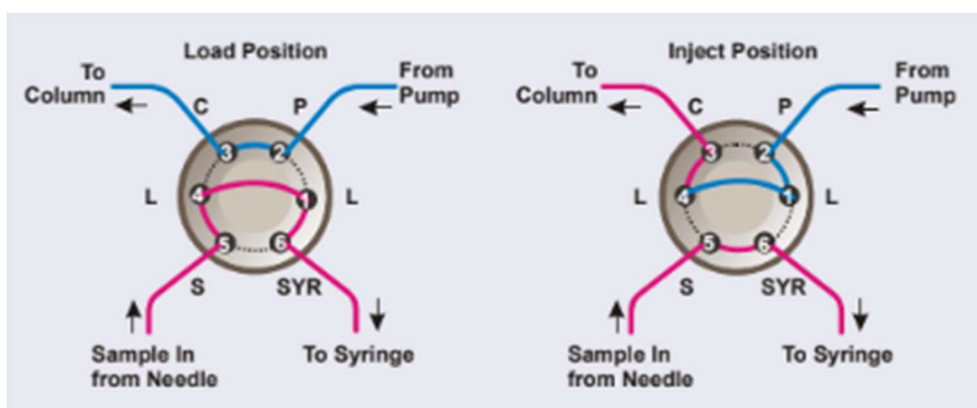
4.2 Vysokotlaký ventil

Vysokotlaký ventil zajišťuje propojení autosampleru s ostatními přístroji sestavy. Autosamplery využívají vysokotlaké ventily nejčastěji o šesti portech se dvěma možnými pozicemi. Díky ventilu je možné plnit vzorkovací smyčku za atmosférického tlaku, zatímco jeho dvěma porty prochází vysokotlaký tok HPLC systému na kolonu. Po naplnění vzorkovací smyčky se ventil přepne do takové polohy, že vysokotlaký tok prochází vzorkovací smyčkou a vzorek se tak dostává do oběhu. [4]

Na obrázku 22 a 23 je schéma zapojení vysokotlakého ventilu při push a pull módech. V pozici ventilu „load“ prochází vysokotlaký tok eluentu skrz porty 2 a 3 vysokotlakého ventilu, ale nedostává se do vzorkovací smyčky, která je umístěna mezi portem 1 a 4. Při přepnutí ventilu do pozice „inject“ vstupuje vysokotlaký tok do ventilu portem 2 a portem 1 se dostává do vzorkovací smyčky, ze které odchází zpět do ventilu portem 4 a z ventilu pak dále na kolonu portem 3. Rozdílem push a pull módu je výstup z portu 6, který v případě push módu ústí v odpadním potrubí, zatímco v případě pull módu propojuje stříkačkovou pumpu s ventilem a tedy i jehlou. Na port 5 je v případě push módu přivedeno potrubí z nástřikového portu jehly a v případě pull módu se jedná o potrubí přímo od jehly. Detailnější popis nástřikových módů je uveden v kapitole 2.1 Pracovní módy.

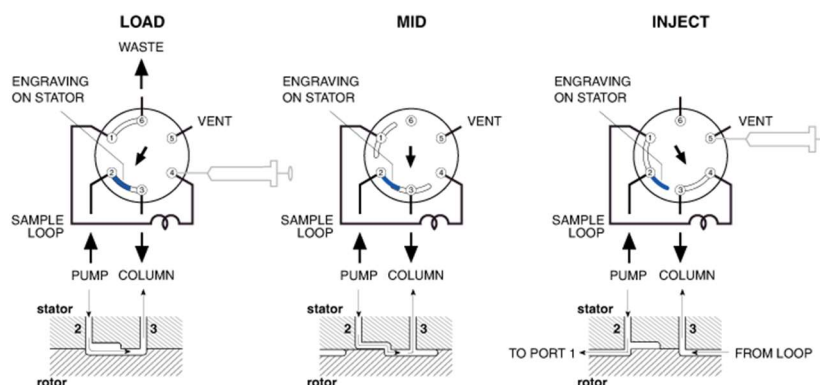


Obrázek 22 - Schéma zapojení vysokotlakého ventilu při push módu [4]



Obrázek 23 - Schéma zapojení vysokotlakého ventilu při pull módu [4]

Při přepínání klasického ventilu mezi pozicemi dochází ke chvilkovému zastavení vysokotlakého toku, což způsobuje tlakové rázy, které dále vedou k většímu opotřebení všech komponent ve vysokotlakém zapojení. Předcházet tomuto problému lze využitím ventilu s úpravou, která umožňuje kontinuální tok média a je znázorněna na obrázku 24. V tomto provedení ventilu nejsou jednotlivé pozice pouhými dírami, tak jak je tomu v případě ventilu bez úpravy, které se v dané pozici dostanou do stejné osy a umožní tak průtok média. V tomto řešení jsou na statoru i rotoru vyfrézované kanálky, které zajišťují, že v době přepínání, a tedy otáčení rotoru, se tyto kanálky částečně překrývají a kapalina tak může stále proudit. Výsledkem tak je neutnutí toku, a tedy zamezení vzniku tlakových rázů. [15]



Obrázek 24 - Nákres konstrukčního řešení úpravy pro minimalizaci tlakových rázů při přepínání vysokotlakých ventilů [16]

5 Konkurence a její parametry

V tabulce 1 jsou uvedeny některé důležité parametry konvenčních autosamplerů pro nastínění reálných hodnot konkurenčních přístrojů. Doba cyklu částečně závisí na objemu nastříkovaného vzorku a je tedy téměř nemožné tyto hodnoty srovnávat v případě, že není objem alespoň řádově podobný. Udávané hodnoty ale mohou být alespoň orientačním ukazatelem doby nástřikového cyklu, se kterou pracují ostatní výrobci. Preciznost nástřiku je výrazně závislá na objemu vzorku, kdy vyšší hodnoty rozsahu náleží často k metodě μl snímání nástřiku, zatímco nižší hodnoty patří k nástřiku několika desítek až stovek μl .

Výhodou autosamplerů od výrobce Agilent je jejich kompatibilita s termostatem Agilent 1290 Infinity, který umožňuje efektivnější chlazení, které zároveň nezasahuje do rozměrů zařízení. Zajímavé je porovnání modelů 1260 Infinity II, který využívá design posuvu ampulka k jehle, a 1260 Infinity HP, který využívá častější řešení posuvu jehla k ampulce. Řešení s posuvem ampulky k jehle má třikrát delší dobu nástřikového cyklu. Je ale potřeba brát toto srovnání s rezervou, jelikož udávaný čas je psaný pro jiné objemy nástřiku. [7, 17]

Autosampler L-3320 od výrobce Rigol je momentálně dodáván v HPLC sestavě společnosti Ecom spol. s r.o. a konstrukce posuvu je řešena za využití pojezdu podnosu s ampulkami v jedné z os. Jeho hlavní předností je nízká cena a jednoduché provedení. Tento autosampler nedisponuje žádným chlazením a doba cyklu není bohužel uvedena. Z praktického používání víme, že přesnost a preciznost nástřiku tohoto zařízení často nekoresponduje s udávanými hodnotami a jedná se tedy spíše o nízko nákladový autosampler. Doba nástřiku se reálně pohybuje okolo 30 až 60 sekund. [8]

Výrobce Spark Holland BV je, co se týče velikosti společnosti, podobný Ecom spol. s r.o., a proto jsou parametry jeho autosampleru Alias dobrým ukazatelem, kam by měl vývoj vlastního přístroje směřovat. Pro posuv je zde využit pohyb jehly ve dvou osách a pojezdu podnosu pro ampulky ve třetí zbývající ose. Stejně jako UltiMate 3000 od výrobce ThermoFisher má chlazení tohoto autosampleru limitaci na maximální teplotní rozdíl 25 °C respektive 22 °C. Zajímavým pozorováním je srovnatelná doba cyklu s Agilent 1260 Infinity HP a ThermoFisher Ultimate 3000, které využívají split-loop mód s posuvem jehly ve třech osách v případě Agilentu a s karuselovým zásobníkem v případě ThermoFisheru. [18, 19]

Tabulka 1 - Parametry konkurenčních autosamplerů [7,8,17,18,19,20]

	Procesy	Teploty chlazení	Carry-over	Preciznost nástřiku	Doba cyklu
	-	°C	%	% RSD	s
Agilent 1260 Infinity II [7]	Ampulka k jehle Split-loop	Termostat 4 – 40	< 0,005	< 1 – 5	< 60 (900 µL)
Rigol L-3320 [8]	Jehla k ampulce Pull mód	-	<0.02	< 0,3 – 1	-
Agilent 1260 Infinity HP [17]	Jehla k ampulce Split-loop	Termostat 4 – 40	< 0,004	< 0,25 – 1,5	< 21 (5 µL)
ThermoFisher UltiMate 3000 WPS [18]	Jehla k ampulce (karusel) Split-loop	4 – 45 max ΔT=22	< 0,004	< 0,25	< 15 (5 µL)
Spark Holland ALIAS [19,20]	Jehla k ampulce Pull mód	4 – (T ₀ – 3) max ΔT=25	-	< 0,3 – 1	< 20 (10 µL)

6 Konstrukce

6.1 Vstupní požadavky

Motivací pro konstrukci vlastního autosampleru pro firmu ECOM spol. s r.o. je jeho potřeba k HPLC gradientnímu analytickému systému, který lze vidět na obrázku 25. Momentálně se tento systém nabízí společně s autosamplerem L-3320 od výrobce Rigol. Vzhledem k využívání autosampleru od dodavatele není prostor pro jeho postupný vývoj, modifikaci, přidávání funkcí a jednoduché servisování. Cílem je vytvořit konstrukčně jednoduchý autosampler, který by vyhovoval procesním požadavkům analytického systému.



Obrázek 25 - HPLC sestava od firmy ECOM spol. s r.o. [21]

Nutným požadavkem je dodržení šířky 280 mm a co možná nejbližší přiblížení se délce 498 mm, což umožňuje umístění autosampleru mezi ostatní přístroje do analytické horizontální sestavy, kterou lze vidět na obrázku 25. Maximální pracovní tlak přípojného systému je 600 bar. Do prostoru pro vzorky by se mělo vejít sto ampulek o objemu 2 ml. Dalším požadavkem je jednoduchý přístup ke stříkačkové pumpě a vzorkovací smyčce pro jejich jednoduchou výměnu. Konstrukce posuvu by měla být jednoduchá a zároveň umožňovat nástřikové cykly do 30 s – pro tento předpoklad bude nutná dlouhodobější

optimalizace. Oproti doposud používanému autosampleru L-3320 by měla být přidána možnost chlazení, a tedy udržení konstantní teploty v prostoru se vzorky. Ve výbavě přístroje by neměl chybět oplach jehly a promývání systému.

6.2 Varianty řešení

Z předešlé rešerše lze pozorovat, že různých variací, jak samotný autosampler poskládat, existuje mnoho. K několika variantám pracovního módu je možno vybrat z několika variant mechanického posuvu, zvolit metodu chlazení a dále pak samozřejmě upravovat samotné umístění komponent v přístroji. V dalších krocích nastíním dvě varianty řešení, které zároveň porovnam s konceptem původní varianty, na jehož prototypu již byly provedeny základní testy funkčnosti. Z těchto variant dále vyberu jednu, kterou rozpracuji.

6.2.1 Původní varianta

Jedná se o původní rozpracovaný koncept autosampleru ve firmě ECOM spol s r.o. s postaveným prvním prototypem. Tato varianta využívá pojezdu jehly ve všech třech osách a splňuje některé vstupní požadavky. Pro nástřik je využit pull pracovní mód. Na místo chlazení je v zařízení umístěno několik větráků, které zajišťují proudění vzduchu kolem vzorků, ale bez žádného výměníku tepla nebo jiného komponentu, který by zajišťoval ochlazení vzduchu. Vlastní navržená stříkačková pumpa vykazuje několik nedokonalostí, které by vedly k nepřesnému natažení vzorků a potřebovala by další optimalizaci.

V posuvu jehly bylo objeveno několik problémů, které ukazují na to, že tento směr by byl velice náročný nebo nepoužitelný. Při využití pohybu jehly ve všech třech osách musí být součástí pohyblivé části s jehlou také elektromotor, který zajišťuje její pohyb v horizontálním směru. Tento fakt vede k mechanickému zatížení celého portálu, jelikož váha elektromotoru a následně jeho setrvačnost znamená zvýšenou mechanickou zátěž na konstrukci posuvu. Výsledkem pak je zvýšení nepřesnosti při najetí jehly nad ampulku, což by při využívání přístroje znamenalo nebezpečí poškození jehly a následně celého systému.

Vzhledem ke vstupním požadavkům a zjištěným nedokonalostem této původní varianty bylo přistoupeno k hledání nového konceptu, který by umožnil lépe dosáhnout stanovených cílů.

6.2.2 Varianta A

Ve variantě A se pokusím nastítnit autosampler, který by byl velice zajímavý primárně svými procesními parametry.

Z možných procesních módů bych vybral split-loop mód, který zajišťuje nízký carry-over, dobré promývání a zároveň neplýtvá vzorkem, a proto je využitelný i na aplikace, které pracují s drahými nebo málo dostupnými vzorky.

Pro tuto variantu volím kontaktní formu chlazení, a to primárně pro její rychlost. Další výhodou této volby je absence nutnosti izolace prostoru se vzorky, která je potřeba v případě využití chlazení za pomoci proudícího vzduchu.

Jelikož chceme dosáhnout krátkých časů nástřikových cyklů, tak nemůžeme využít koncept posuvu „ampulka k jehle“, i když by to ulehčilo těsnění vysokotlakého portu jehly, jehož potřeba plyne z volby pracovního módu. Vzhledem k volbě chladicího režimu nelze také využít pohybu samotného podnosu se vzorky v jedné ose. Proto bude v tomto případě vykonávat pohyb ve všech třech osách samotná jehla.

6.2.3 Varianta B

Varianta B je myšlena jako průnik dobrých procesních podmínek a jednoduché konstrukce.

Pro tento koncept volím pracovní mód pull, a to primárně z důvodu jednodušší konstrukce oproti split-loop módu, který ale zachovává dobrou rychlost nástřiku. Nevýhodou tohoto řešení je primárně plýtvání se vzorkem, které ale lze případně řešit využitím μ l snímacího nástřiku.

Jelikož jedním z cílů této varianty je jednoduchost konstrukce, posuv bude kombinací pohybu podnosu se vzorky v jedné ose a pohybu jehly ve zbylých dvou osách. Díky tomu není pohyb v osách vzájemně mechanicky vázán a řešení je tedy jednodušší na upevnění, přesnost pohybu a mechanické namáhání.

Z volby posuvu vyplývá také varianta chlazení. Pohyb podnosu se vzorky vyřazuje variantu kontaktního chlazení, a proto využiji chlazení pomocí proudícího vzduchu. Chladicí modul bude umístěn na zadní straně autosampleru odkud bude izolovaným tunelem proudit studený vzduch ke vzorkům a druhým tunelem zase zpět k modulu. Tato varianta je konstrukčně jednodušší než přídatný termostat, který by se připojoval k autosampleru.

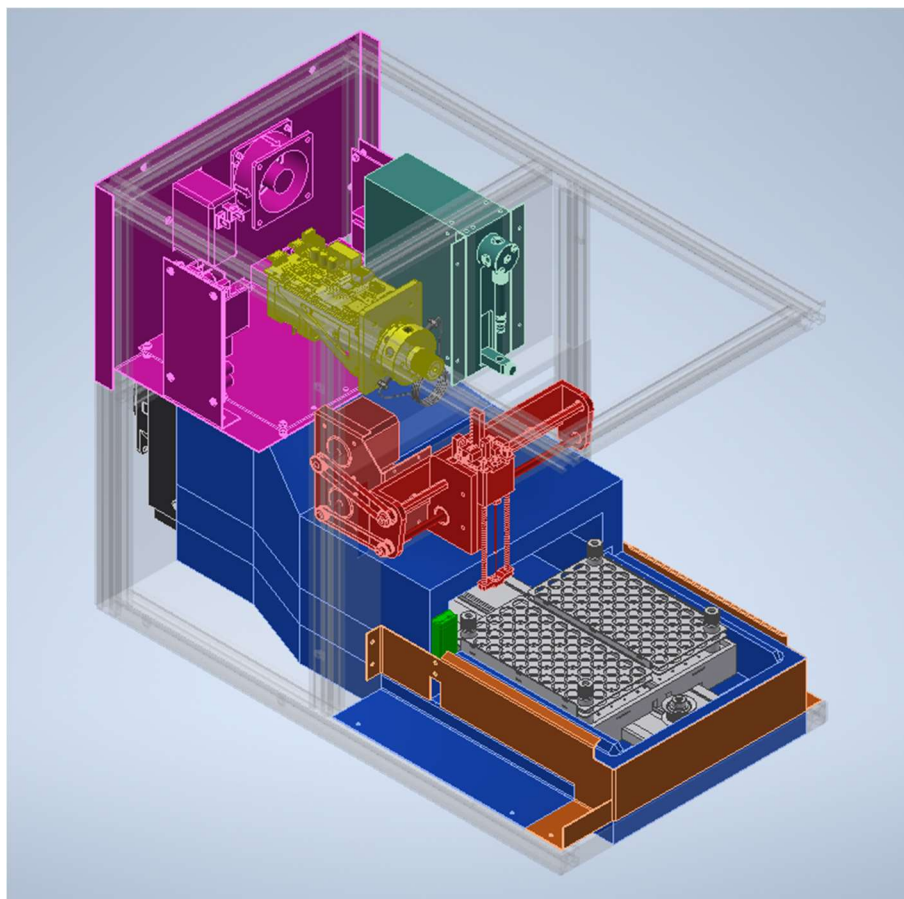
6.3 Zvolené řešení

Pro další rozpracování volím variantu B. Primárním důvodem je konstrukční jednoduchost pro výrobu, a tedy i menší potřeba dlouhodobého vývoje, než by se došlo k finálnímu produktu. Varianta A pracuje s pracovním módem split-loop, což znamená, že nástřiková smyčka je součástí vysokotlakého oběhu, a tedy i armatury, které ji připojují, musí zvládnout pracovní tlak až 600 barů, což vede k velice obtížné výměně oproti variantě B, kdy je smyčka v nízkotlaké oblasti a jedná se tedy o povolení dvou průchozích šroubů. Stejně tak je i řešení samotného posuvu daleko méně náchylné na mechanické namáhání. Jednoduchost a variabilita varianty B bude pravděpodobně vykoupena lehce horšími procesními podmínkami.

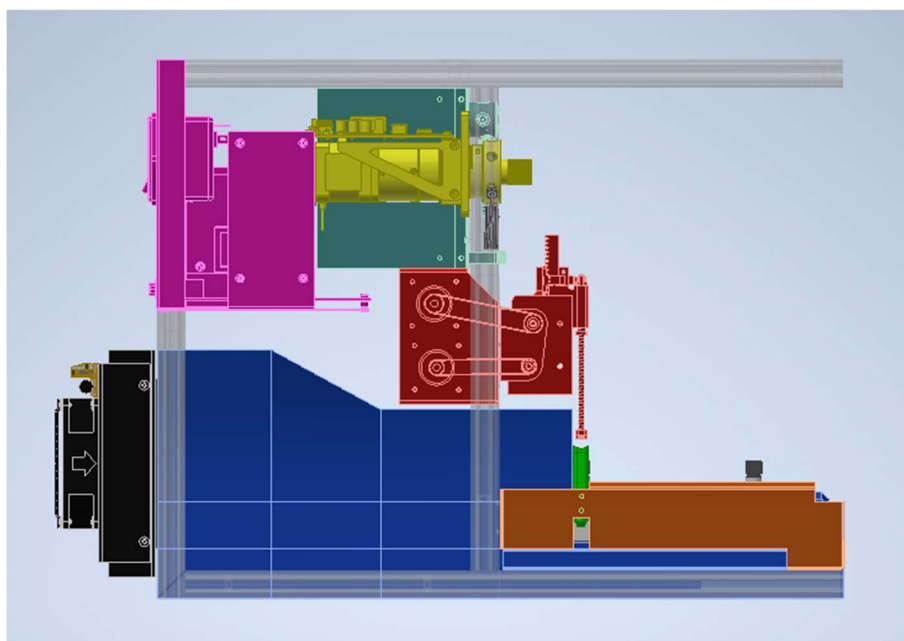
6.4 Design a konstrukce jednotlivých komponent

6.4.1 Rozložení komponentů

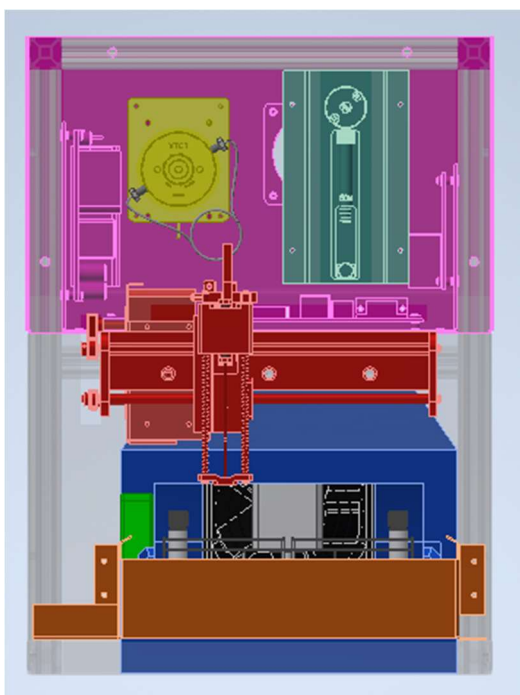
Rozložení komponentů v autosampleru vychází převážně ze zvoleného konceptu v kombinaci s požadavky na maximální šířku 280 mm. Určujícím komponentem je zde vzduchový tunel pro chlazení (na Obrázek 26, 27, 28 modře), z jehož umístění dále vychází pozice jehly a jejího posuvu (červeně), umístění chladicího modulu (černě) a také oplachového portu jehly, který je dobré mít co nejbližší k pojízdnému podnosu, aby byla vzdálenost od ampulek k oplachu co nejkratší. Jelikož je důležité, aby byly vysokotlaký ventil (žlutě) a stříkačková pumpa (tyrkysově) umístěny v přední části autosampleru z důvodu jednoduché výměny stříkačky a vzorkovací smyčky, není možné je umístit do zadní části přístroje. Pro naplnění požadavku na maximální šířku není možné tyto komponenty umístit vedle vzduchového tunelu s pojezdem podnosu pro ampulky (šedě). Z těchto důvodů jsou stříkačková pumpa a vysokotlaký ventil uloženy nad pojezdem jehly. Tímto zvýšením přístroje se také vytvořil prostor v zadní části nad vzduchovým chladicím tunelem, který je využit pro veškerou řídicí a připojovací elektroniku autosampleru (růžově).



Obrázek 26 - Rozložení komponentů



Obrázek 27 - Rozložení komponentů, pohled z boku



Obrázek 28 - Rozložení komponentů, pohled z předu

6.4.2 Materiály

Pro konstrukci je použito několik materiálů. Všechny komponenty, které se mohou dostat do přímého kontaktu se vzorky musí být vyrobeny buď z nerezové oceli nebo z Polyetheretherketonu (PEEK), který se vyznačuje vysokou teplotní odolností a dlouhotrvající chemickou odolností a díky těmto svým vlastnostem je často využívaným materiálem v laboratorních přístrojích.

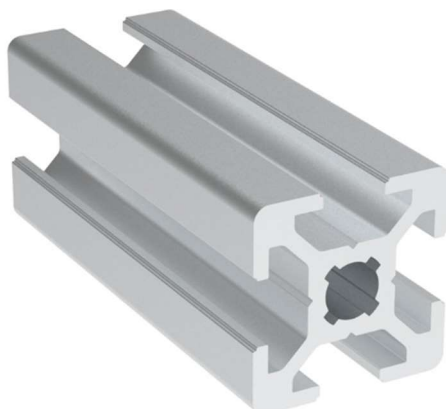
Konstrukční součásti, které se nedostanou do přímého kontaktu se vzorky budou vyrobeny ze slitiny hliníku, nerezové oceli nebo plastu.

6.4.3 Šasi

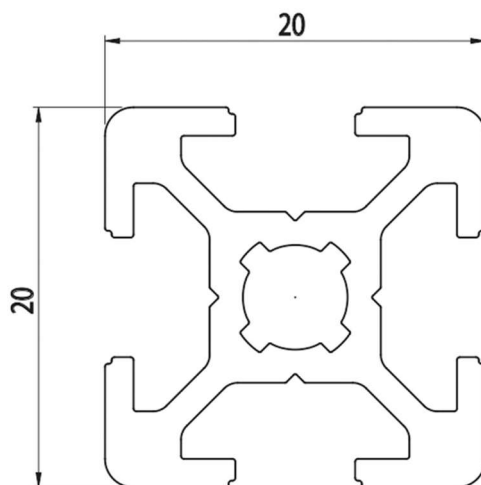
Hlavním účelem šasi je v tomto případě vytvořit nosnou konstrukci, která definuje požadované rozměry přístroje 280 mm x 498 mm a lze na ni upevnit jednotlivé komponenty. Výška, která nebyla omezena požadavky, je nakonec 383 mm. Konstrukce je o několik milimetrů užší a kratší než požadované rozměry, protože se počítá s krycími plechy z vnějšku šasi.

Nosné šasi autosampleru je tvořeno hliníkovými profily BH 20-6 20x20 (na obrázku 29 a 30), které zajistí pevnou a lehkou konstrukci s jednoduchým sestavením. Tyto profily jsou vyrobeny z hliníkové slitiny EN AW 6060 T5. Šasi je

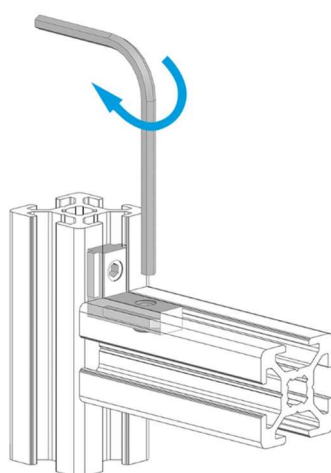
spojeno pomocí úhelníků (na obrázku 31) do drážky BH 20-6, které jsou kompatibilní s použitými profily. [22, 23]



Obrázek 29 – hliníkový profil šasi [22]

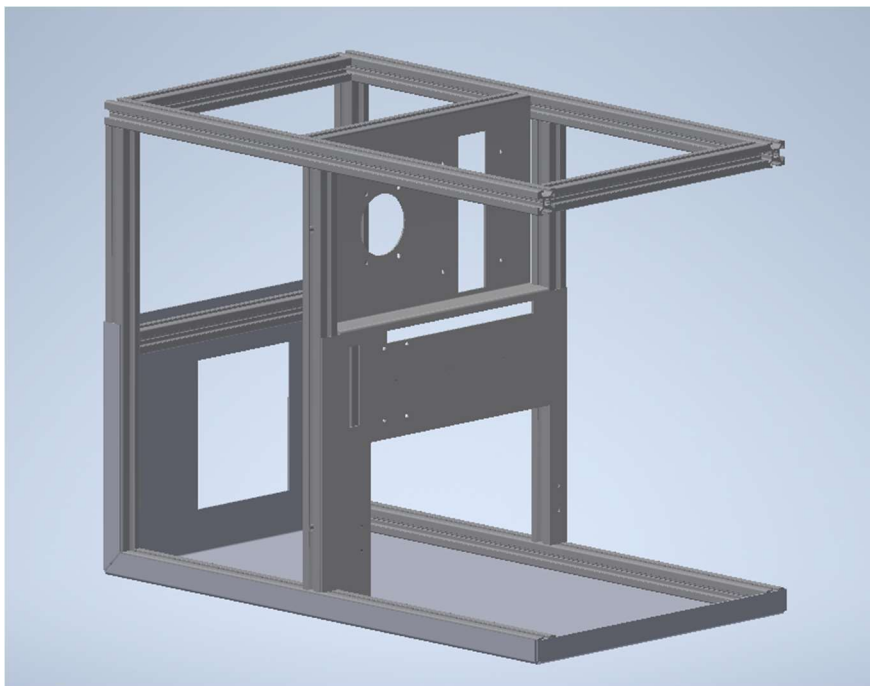


Obrázek 30 – Rozměry hliníkového profilu [22]

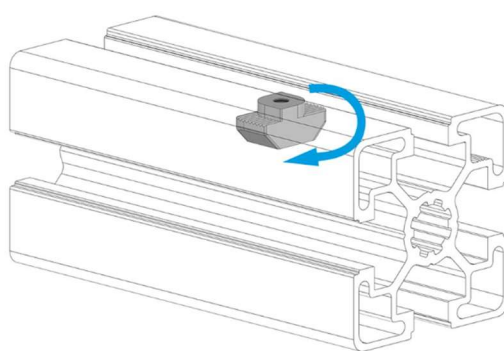


Obrázek 31 – Spojovací úhelník hliníkových profilů [23]

Základní šasi z hliníkových profilů, které je vidět na obrázku 32, je doplněno plechovou vanou o tloušťce stěny 1,5 mm, která zajišťuje robustní dno a dobrý základ pro upevnění šasi. Poslední součástí šasi je středová stěna s otvory pro uchycení posuvu jehly, stříkačkové pumpy, vysokotlakého ventilu a elektromotorů pro posuv jehly. Spojení plechů s hliníkovými profily zajišťují matice M5 do drážky BH 20-6 (na obrázku 33). [24]



Obrázek 32 – Šasi autosampleru



Obrázek 33 – Matice M5 do hliníkových profilů pro upevnění plechů [24]

6.4.4 Stříkačková pumpa

Jelikož je přesnost stříkačkové pumpy klíčovým faktorem pro přesný objem nástřiku a firma ECOM nemá dostatečné zdroje na dlouhodobý vývoj, optimalizaci a samostatnou výrobu, je použita stříkačková pumpa od externího výrobce.

Vybranou variantou je pumpa C3000MP (na obrázku 34) od výrobce Tricontinent, která splňuje všechny vstupní požadavky a lze jí vybavit stříkačkou o objemech od 50 μl do 12,5 ml. Tento model zajišťuje široké rozlišení díky elektromotoru s až 3 000 kroky ve standardním módu a tím je zároveň možno volit rychlost natahování z ampulky dle daného vzorku, kdy dobu natažení celého objemu stříkačky lze měnit mezi 1,2 s až 800 min. Další parametry jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2 - Vlastnosti stříkačkové pumpy [25]

Čas cyklu	1,2 s – 100 min
Rozlišení jednoho cyklu	3000 kroků
Operační teplota	15 °C – 40 °C
Chyba (50 – 100 μl)	< 0,1 %
Chyba (250 μl – 12,5 ml)	<0,05 %
Napájení	24 VDC + 10 %

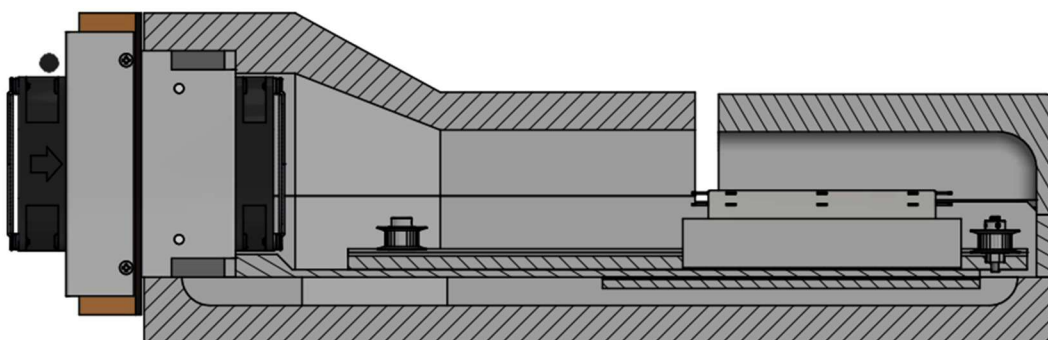


Obrázek 34 – Stříkačková pumpa [25]

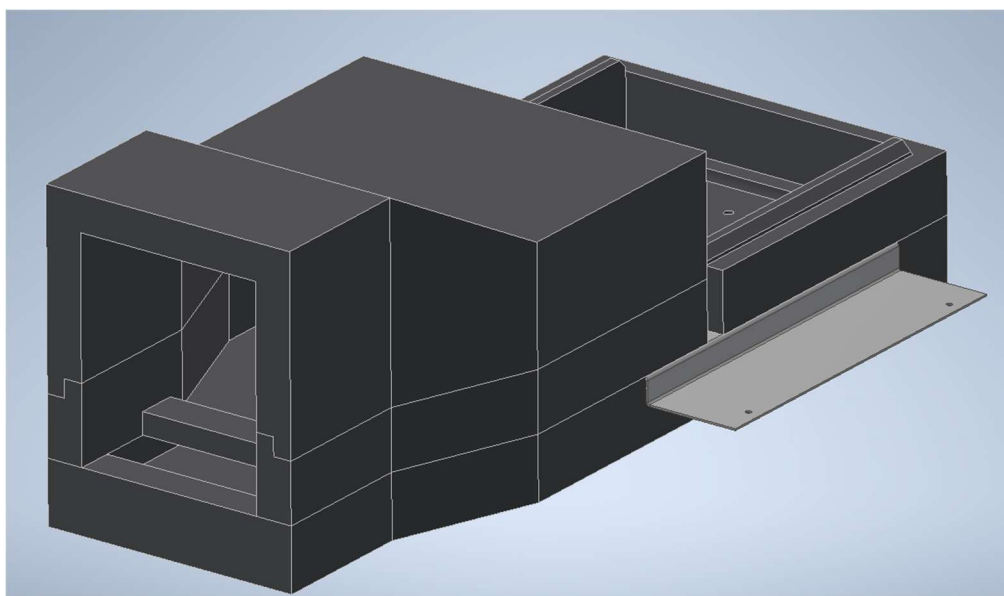
Stříkačková pumpa je vybavena šesticestným distribučním ventilem, který umožňuje zapojení potrubí od jehly, stříkačky, několika čistících roztoků a odpadu.

6.4.5 Chladicí sestava

Chlazení pracovního prostoru autosampleru je řešeno za využití chladicího vzduchu, který proudí od modulu umístěného na zadní straně přístroje skrz spodní izolovaný tunel do přední části autosampleru se vzorky. Izolovaný tunel je vytvořený z extrudovaného polypropylenu (EPP) a tloušťka stěny je 20 mm. Pomocí tohoto tunelu je zajištěna cirkulace vzduchu v zařízení. Na obrázku 35 se nachází podélný řez chladicí sestavy a na obrázku 36 je vidět samotný chladicí tunel.



Obrázek 35 – Řez chladicí sestavy



Obrázek 36 – Chladicí tunel

6.4.6 Chladicí modul

Použitý chladicí modul je AA-040-24-22 od firmy Laird Thermal Systems. Tato sestava termoelektrického chladiče vzduch-vzduch nabízí spolehlivý

kompaktní výkon chlazením objektů nucenou konvekcí. Teplo je pohlcováno a odváděno pomocí pevných žebrovaných výměníků. Tepelný tok je tvořen pomocí Peltierových článků. Pro lepší představení je vidět podoba modulu na obrázku 37 a jeho rozměrové parametry na obrázku 38.

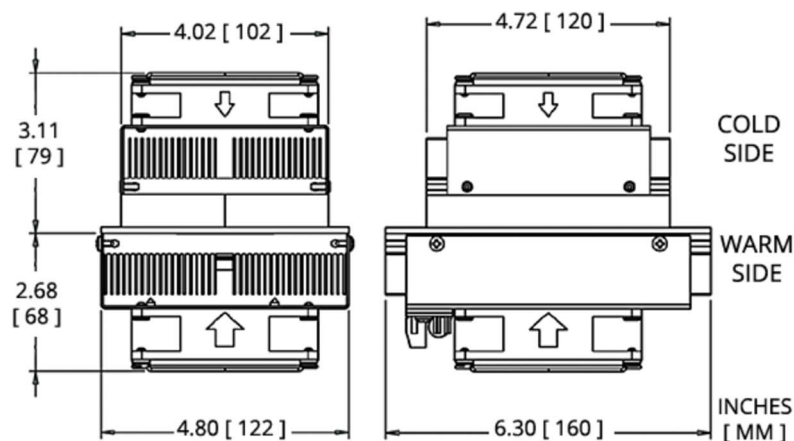
Tento konkrétní modul byl vybrán jako nejvýkonnější z těch, které splňují rozměrové požadavky. Operační teplotní rozsah je od $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $52\text{ }^{\circ}\text{C}$, což dostatečně pokrývá standardní laboratorní podmínky. Další důležité vlastnosti jsou uvedeny v tabulce 3 a rozměry lze vidět na obrázku 38.

Tabulka 3 - Vlastností chladičího modulu [26]

Provozní teploty	$-10\text{ }^{\circ}\text{C} - 52\text{ }^{\circ}\text{C}$
Elektrické napětí	24 VDC nom. / 30 VDC max.
Elektrický proud	provoz 2,6 A / najetí 3,0 A
Napájení	62,0 W
Střední doba mezi poruchami	40 000 hod
Max. chladičí výkon	41 W
Max. rozdíl teplot T_C a T_H	$43\text{ }^{\circ}\text{C}$
Hmotnost	1,8 kg



Obrázek 37 – Chladičí modul [26]



Obrázek 38 – Výkres chladicího modulu [26]

6.4.7 Vysokotlaký ventil

Vysokotlaký ventil bude použit z nabídky produktů firmy Ecom spol. s r.o., ve které jsou vyvíjeny vlastní ovladače ventilů kompatibilně s ventily dodávanými od firmy VICI. Podoba vysokotlakého ventilu a jednotlivých hlav je vidět na obrázku 39. V momentální době mají nabízené komplety maximální pracovní tlak pouze 5 000 psi, což je nedostatečné pro použití v tomto systému. Ve vývoji probíhá testování ovladače s ventilem s maximálním pracovním tlakem 10 000 psi, který má 6 portů a 2 pozice.

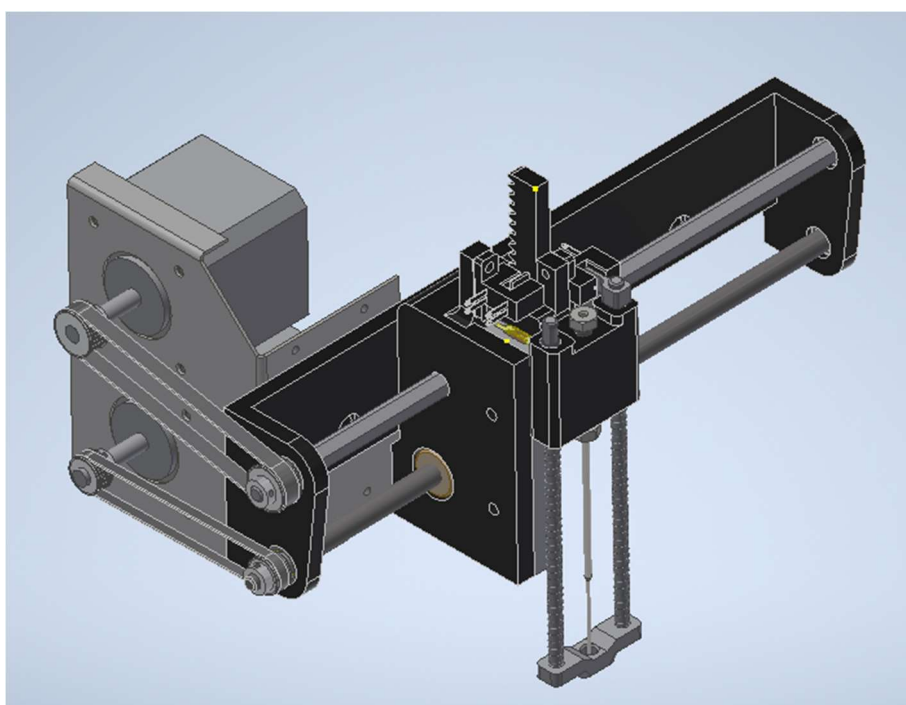
Ventil má automatickou detekci zastavení motoru, která zabrání mechanickému poškození v případě, že by se ventil nemohl otočit z důvodu mechanické překážky nebo špatného použití. Při výpadku elektrické energie se zastaví motor a ventil uloží aktuální polohu dle kodéru a poté se vypne. Tato funkce zajišťuje bezproblémové najetí ihned po obnovení dodávky elektrické energie bez nutnosti kalibrace. Díky optimalizaci přepínací rychlosti je doba přechodu mezi dvěma pozicemi 95 ms. [30]



Obrázek 39 – Vysokotlaké ventily od firmy Ecom spol. s r.o. [30]

6.4.8 Posuv jehly

Posuv jehly v horizontálním a vertikálním směru zajišťují dva krokové elektromotory NEMA 17 s krokem $1,8^\circ$, které disponují dostatečnou citlivostí pro přesné najetí jehly nad ampulku se vzorkem. Každý elektromotor je šrouby připevněn k nosnému plechu, který jej ukotvuje ke středové stěně šasi. Nosný díl držící dva hřídele je pomocí šroubů upevněn přímo ke středové stěně konstrukce autosampleru. Hřídele jsou uloženy v kuličkových ložiskách SKF 618/5, které jsou zajištěny pojistnými kroužky. Na obrázku 40 je možno vidět kompletní sestavu zajišťující posuv jehly.

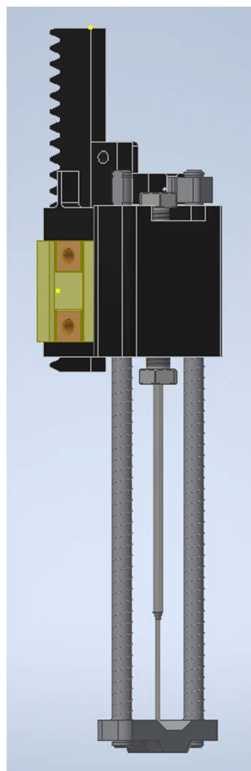


Obrázek 40 – Sestava posuvu jehly v horizontálním a vertikálním směru

U vertikálního pohybu je krouticí moment od motoru převáděn ozubeným řemenem na šestiúhelníkový hřídel, na kterém je nasunutý ozubený pastorek, který v kontaktu s ozubeným hřebenem převádí krouticí moment na lineární pohyb. Jelikož není pastorek axiálně zajištěn na hřídeli, při horizontálním pohybu modulu jehly se po šestihřanném hřídeli posouvá. Vedení posuvného vertikálního pohybu zajišťuje vodící lišta pojezdu Iigus Drylin N – 17 s protikusem Drylin N – 17 Iglidur J. [32]

Při vertikálním pohybu a zjetí jehly do ampulky se vzorkem se spodní část modulu, který je vidět na obrázku 41, opře o uzávěr jehly a pružiny na vodících tyčích se stlačí. Na jedné z vodících tyčí je na horní části umístěna optická závora,

díky které systém indikuje, kdy se posuvný modul vrátil do výchozí polohy. Pro pevné vedení je každá z vodicích tyčí uložena ve dvou polymerových nízko třecích pouzdech Iigus Iglidur GSM-0405-06, jak lze vidět na **Error! Reference source not found.**, která zajišťují minimální vůli v normálovém směru vůči ose posuvu. [31]

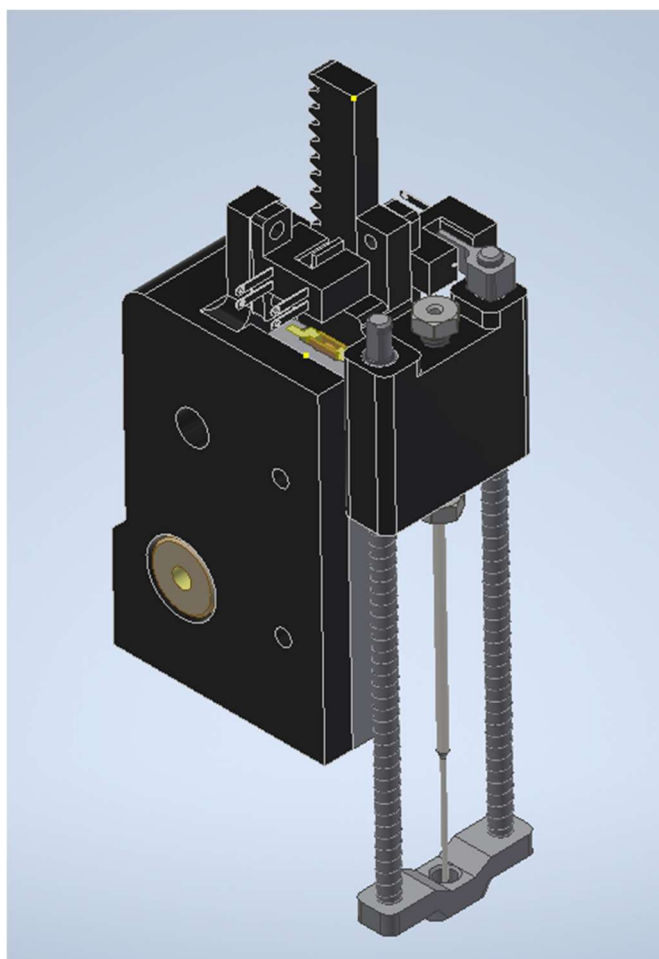


Obrázek 41 – Horizontálně posuvný modul s jehlou

Pohyb celého modulu s jehlou (obrázek 43) v horizontální ose je zajištěn šroubovým převodem, který je také poháněn ozubeným řemenem od elektromotoru. Matice vodicího šroubu Dryspin High Helix (na obrázku 42) se skládá z několika komponent, které zajišťují nulovou vůli a vysokou přesnost i jemných pohybů. I v tomto případě je využita optická brána pro zjištění lokace posuvného modulu. [27]



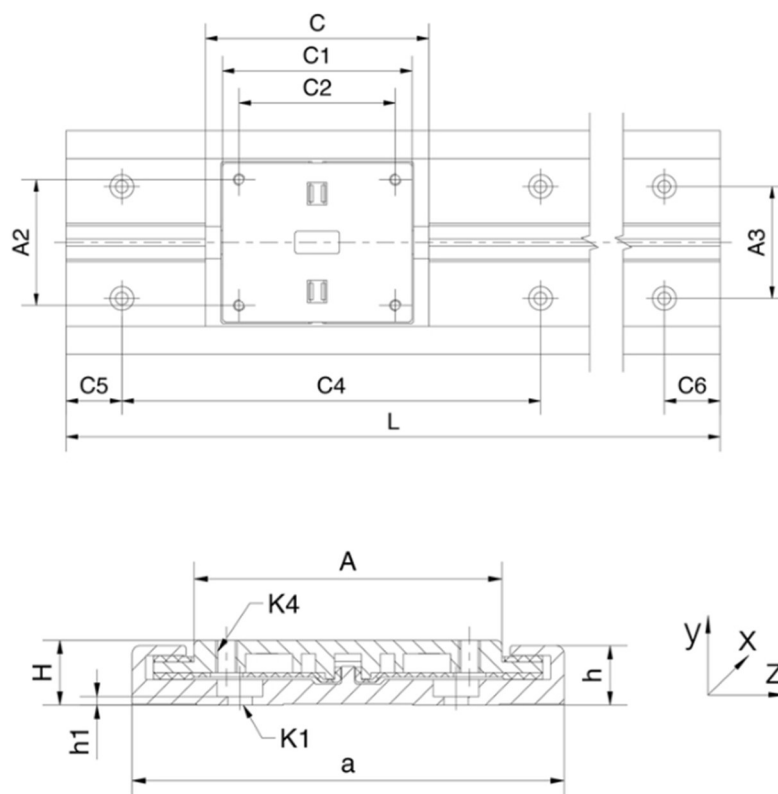
Obrázek 42 – Matice vodicího šroubu [27]



Obrázek 43 – Vertikálně posuvný modul s jehlou

6.4.9 Posuv podnosu

Posuv podnosu je zajištěn pomocí krokového elektromotoru NEMA 17 a řemenového převodu. Lineární pojezd zajišťuje vodicí kolejnice Drylin N 80 od výrobce Iigus Motion Plastics s pojízdným protikusem Drylin N 80 Iglidur J. Díky možnosti posuvu elektromotoru je zajištěna případná potřeba dopnutí řemenu dle potřeby. Celá tato sestava je upevněna dvěma šrouby k nosnému plechu, který ji spojuje se základní konstrukcí autosampleru. Rozměrové parametry vodicí kolejnice a protikusu jsou znázorněny na obrázku 44 a uvedeny v tabulce 4. Podstatnými rozměry jsou hlavně šířka kolejnice 80 mm, celková výška kolejnice s protikusem 12 mm a délka použité kolejnice 360 mm.



Obrázek 44 – Výkres posuvné lišty podnosu [28]

Tabulka 4 - Rozměry posuvné lišty podnosu [28,29]

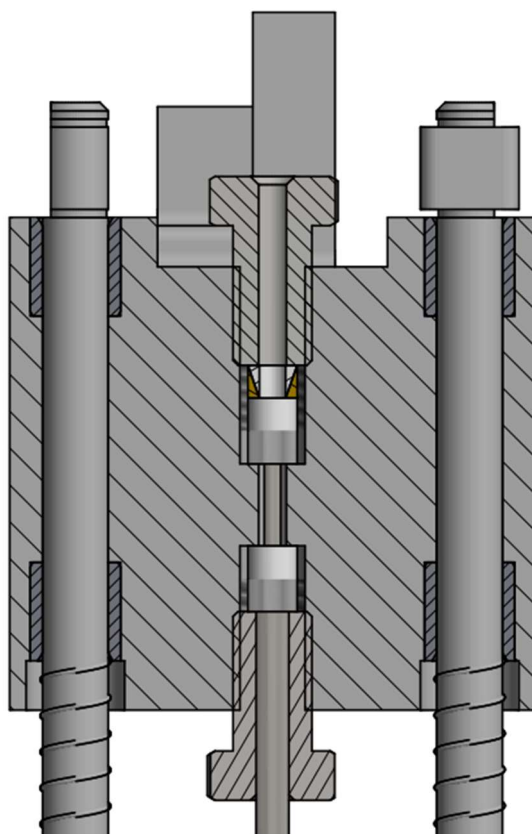
a	80 mm
A	57 mm
C	80 mm
C1	68 mm
C2	56 mm
C4	150 mm
A2	45 mm
A3	40 mm
C5/C6 min	25 mm
C5/C6 max	99,5 mm
H	12 mm
H	11 mm
h1	1,5 mm
ØK1	4,5 mm
K4	M4
L	360 mm

6.4.10 Jehla

Sestava jehly autosampleru se skládá z několika důležitých komponent. V tomto případě jsou využity dvě jehly. Delší a užší z nich je propichovací a zároveň natahovací jehla, která zajišťuje natažení vzorku do systému autosampleru. Druhý,

kratší, jehla funguje jako odvodušňovací, aby v ampulce nevznikal při odsávání vzorku podtlak, který by bylo nutné překonávat stříkačkovou pumpou. Druhou funkcí kratší jehly je opora tenčí jehly při propichování ochranného uzávěru ampulky.

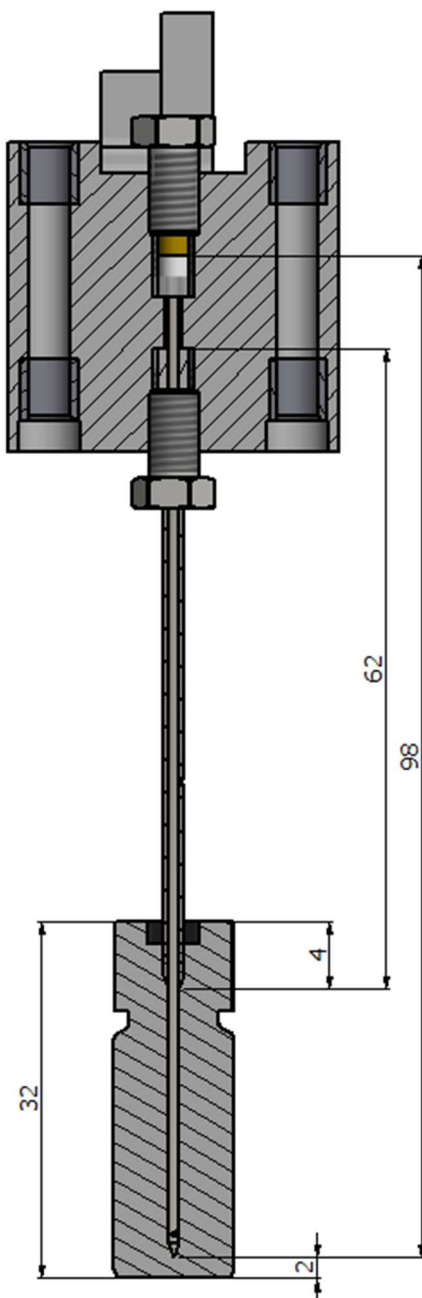
Na **Error! Reference source not found.** je vidět způsob upevnění jehel v těle posuvného modulu. Vnitřní delší jehla je uložena na plochém dně shora a na ústí jehly je přiloženo silikonové těsnění, na které doléhá měděná redukce plochého dna na kuželové s ferulí, do které bude zasunuta hadička vedoucí k vysokotlakému ventilu. Tyto součásti jsou staženy průchozím nerezovým šroubem s otvorem 1/16" se závitem UNF 10-32. Ze spodu je stejným šroubem upevněna kratší tlustší jehla.



Obrázek 45 - Upevnění jehel v posuvném modulu

Pojezdová výška jehly je 51 mm nad pojízdným podnosem pro ampulky. Díky tomu lze do autosampleru umístit nejen ampulky o objemu 2 ml a výšce 32 mm, ale také ampulky o objemu 10 ml, které mají výšku 46 mm. Výška je tedy nastavena tak, aby při použití 10 ml ampulek byla pojezdová výška 5 mm nad uzávěry. V nejnižším bodě posuvu je jehla 2 mm nad dnem ampulky a nemůže tak dojít ke kolizi. Délka použité hlavní jehly je 98 mm. Ve standardní verzi je délka

odvzdušňovací jehly 62 mm, která se díky tomu při použití ampulky o objemu 2 ml dostane o 4 mm pod uzávěr. Schéma délky jehel se nachází na obrázku 46. Při využití jiných ampulek s větším objemem je potřeba odvzdušňovací jehlu vyměnit tak, aby se její ústí nedostalo pod hladinu vzorku, ale zároveň nezůstalo nad ampulkou.

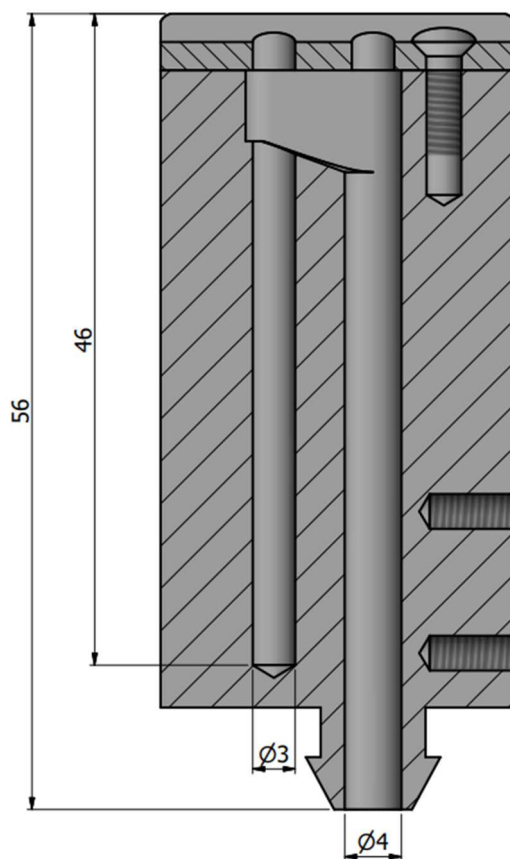


Obrázek 46 – Délky jehel

6.4.11 Oplach jehly

Oplach jehly je zajištěn díky oplachovému portu (obrázek 47), který je umístěn vedle posuvného podnosu tak, aby k němu měla jehla co možná nejkratší

cestu. V těle portu se nacházejí dva otvory, které umožňují dvě varianty použití. Základním využitím je vypuštění obsahu jehly a potrubí do odpadu, ke kterému se využívá průchozí díra. Další možností je vnější oplach jehly, který umožňuje neprůchozí díra s přepadem do odpadu. Tento prostor si jehla za využití stříkačkové pumpy sama naplní.



Obrázek 47 - Oplachový port jehly, zobrazení v řezu

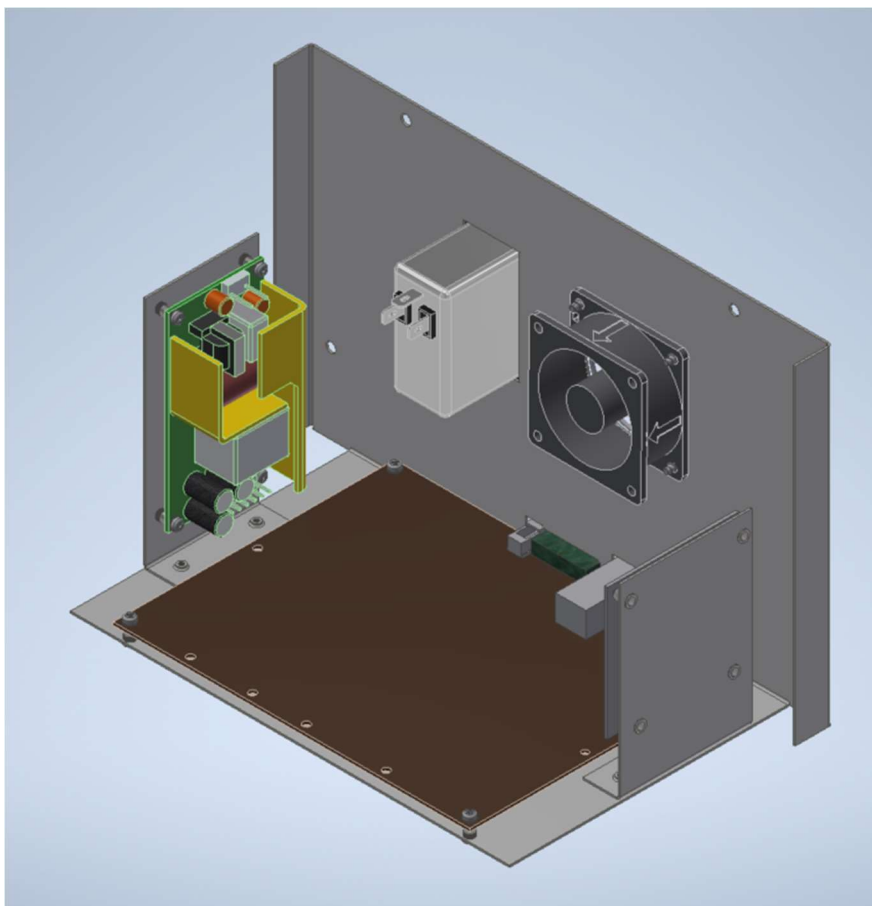
Příklad možné sekvence oplachu jehly:

1. Jehla najede nad průchozí otvor a sjede do něj.
2. Za pomoci stříkačkové pumpy je vytlačen obsah jehly a potrubí do odpadu.
3. Jehla přejede do neprůchozího otvoru, zatímco stříkačková pumpa za využití nízkotlakého přepínacího ventilu natahuje proplachovací médium.
4. Stříkačková pumpa vytlačí proplachovací médium skrze jehlu a naplní tak neprůchozí otvor. Tím dochází k vnějšímu oplachu jehly, která se může zároveň opakovaně horizontálně posunout, a ještě více tak napomoci vnějšímu oplachu.
5. Jehla vyjede z portu.

6.4.12 Panel s elektronikou

Pro dobrou ovladatelnost a kompatibilitu s firemními přístroji bylo stanoveno, že elektronika autosampleru bude obsahovat následující komponenty: síťová zásuvka s vypínačem, řídicí deska SPOK-P a spínaný zdroj.

Panel elektroniky (na obrázku 48) je vyroben z nerezového plechu o tloušťce 1 mm a jsou na něm umístěné všechny řídicí komponenty přístroje. Umístěn je na zadní straně, a to takovým způsobem, aby nebylo nutno ihned rozpojovat a rozkládat celou HPLC sestavu několika přístrojů postavených na sobě. Celý panel je tedy možno po odšroubování čtyř šroubů ze zadní strany vysunout ven a provést nutné kontroly nebo opravy.

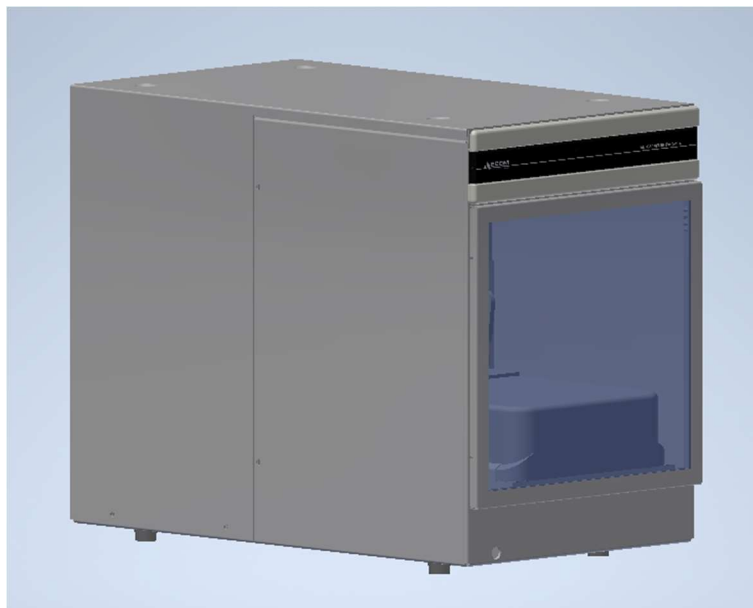


Obrázek 48 - Panel s elektronikou

6.4.13 Vnější podoba zařízení

Vnější krytování je vytvořeno z nerezového plechu o tloušťce 1 mm. Pouze v místě, kde se nachází vana je tloušťka krytování 1,5 mm. Na přední straně se kromě průhledných dveří nachází také specifické čelo pro přístroje v analytické HPLC řadě firmy Ecom spol. s r.o.

Konečné vnější rozměry jsou 497 x 280 x 382,5 mm. Délka 497 mm je dále prodloužena o vnější část chladičového modulu na 566 mm. Na obrázcích 49 a 50 je vidět finální vnější podoba autosampleru.



Obrázek 49 - Konečná vnější podoba autosampleru zředu



Obrázek 50 - Konečná vnější podoba autosampleru zezadu

6.4.14 Připojení autosampleru do HPLC systému

Připojení autosampleru do HPLC systému se provádí přímo na vysokotlakém ventilu pomocí průchozího šroubu a ferule do portu 2 a 3. Závit pro průchozí šroub je UNF 10-32 a připojované kapiláry by měly mít vnější průměr 1/16", tedy 1,5875 mm. Dvířka autosampleru jsou uzpůsobena pro vstup kapilár

vysokotlakého oběhu systému, které je tak možné dovést až k samotnému ventilu. Důvodem tohoto řešení, oproti připojování na vnějšku zařízení, je potřeba dobrého utěsnění každé armatury, která je součástí vysokotlakého oběhu a se zvyšováním jejich počtu se zvyšuje šance na vznik netěsností. Dalším podstatným důvodem je pak také mrtvý objem každého takového spojení, díky kterému se zvyšuje možnost křížové kontaminace, navyšuje se disperze na hranicích mezi kapalinami a zvyšuje se tak nepřesnost celého systému. Na obrázku 49 je vidět v levém dolním rohu čela autosampleru výstup odpadního potrubí přístroje, které je potřeba zapojit do spádového odpadu celého HPLC systému.

6.5 Kontrolní výpočty

6.5.1 Nosnost konstrukce

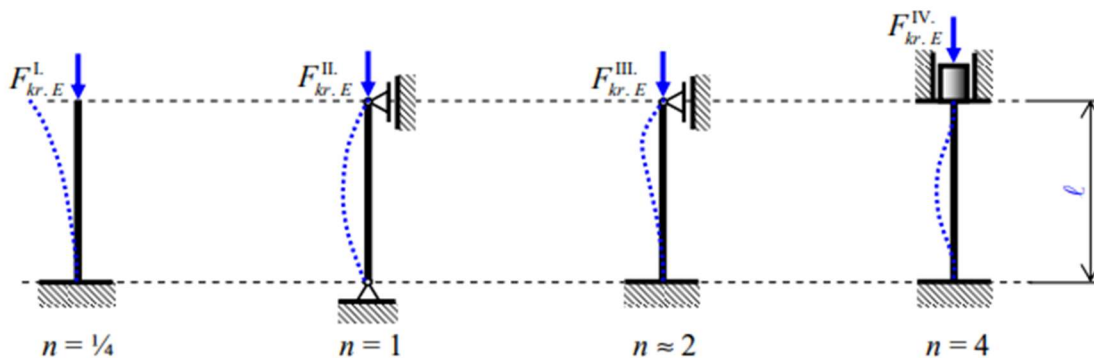
Jelikož jedno z plánovaných využití autosampleru je v HPLC sestavě, která se staví horizontálně jeden přístroj na druhý, je nutné zkontrolovat nosnost konstrukce. Při využití v HPLC sestavě od firmy Ecom spol. s r.o. se bude jednat o zatížení 40 kg při postavení všech dalších přístrojů sestavy na autosampler.

Konstrukce je sestavena z hliníkových profilů BH 20-6, které jsou blíže popsány v kapitole 6.4.2. Použitým materiálem je anodizovaný hliník EN AW-6060 v metalurgickém stupni T5 s modulem pružnosti v tahu 70 GPa, mezí kluzu 120 MPa a mezí pevnosti v tahu 160 MPa [33]. Moment setrvačnosti v řezu je 0,67 cm⁴ a plocha řezu je 165 mm² [22]. Pro použitý materiál se nepodařilo zjistit další potřebné mechanické vlastnosti, tj. mez úměrnosti a mez kluzu v tlaku. Proto je ve výpočtu uvažováno pouze s hodnotou meze kluzu v tahu.

Aby mohla být ověřena stabilita prutu na vzpěr, musí být nejdříve stanoveno, který model je pro tento případ ideální. Pro volbu mezi Eulerovou a Tetmajerovou metodou se využívá mezní štíhlostní poměr λ_{mez} , který udává, zda pro daný prut nastane dříve mezní stav pružnosti nebo vzpěrné stability. Mezní štíhlost je určena z Eulerova vztahu jako poslední bod pružného vzpěru takto:

$$\lambda_{mez} = \sqrt{n \cdot \frac{\pi^2 \cdot E}{\sigma_k}} = \sqrt{2 \cdot \frac{\pi^2 \cdot 70\,000}{120}} = 107,31, \quad (1)$$

kde n (-) je parametr volený dle varianty vzpěru na obrázku 51. Řešenému případu se nejvíce podobá třetí varianta s parametrem rovným 2.



Obrázek 51 - Varianty vzpěru [34]

Štíhlost řešeného prutu λ závisí pouze na jeho rozměrech:

$$\lambda = l \cdot \sqrt{\frac{A}{J_{min}}} = 360 \cdot \sqrt{\frac{165}{67\,000}} = 17,87 \quad (2)$$

V případě, že je štíhlost řešeného prutu menší než mezní štíhlost, znamená to, že pro tento případ nastane dříve mezní stav pružnosti a je tedy třeba hledat mezní síly v oblasti plastických deformací. Tento případ lze řešit například podle Tetmajera. Kritické napětí dle Tetmajera lze spočítat následovně:

$$\sigma_{kr.T.} = \sigma_k - \frac{\sigma_k - \sigma_u}{\lambda_{mez}} \cdot \lambda = 120 - \frac{120 - 120}{107,31} \cdot 17,87 = 120 \text{ MPa} \quad (3)$$

Z kritického napětí dle Tetmajera lze dále určit kritickou sílu:

$$F_{KR} = \sigma_{kr.T.} \cdot A = 120 \cdot 165 = 19\,800 \text{ N} = 19,8 \text{ kN} \quad (4)$$

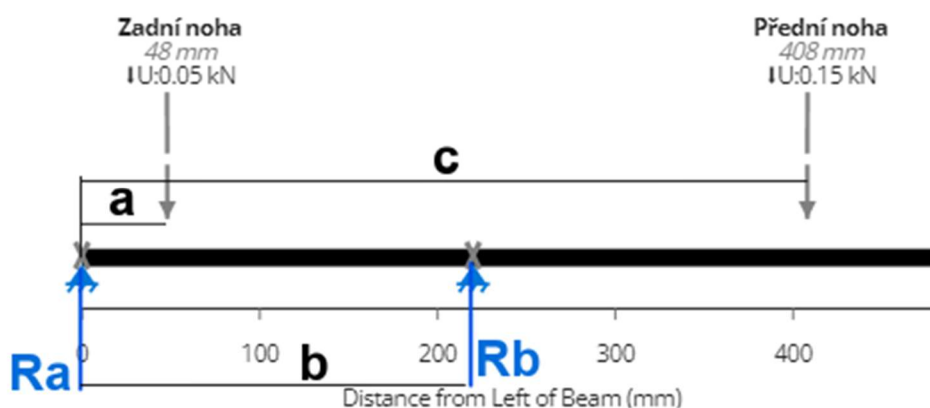
Kritickou silou pro jeden nosník je tedy 19,8 kN. Další rovnice pro gravitační sílu doplněná o bezpečnostní koeficient vede k maximální možné bezpečné hmotnosti, kterou lze jeden nosník zatížit, kde m_{1D} (kg) je dovolená hmotnost na jeden nosník, k (-) je koeficient bezpečnosti a g (m/s^2) je gravitační zrychlení.

$$m_{1D} = \frac{F_{KR}}{g \cdot k} = \frac{19800}{9,81 \cdot 3} = 673 \text{ kg} \quad (5)$$

Vzhledem k požadavku na nosnost 40 kg je tato bezpečná nosnost jednoho nosníku 673 kg více než dostatečná a při využití čtyřech takových nosníků je konstrukce v pořádku i s případnou rezervou pro další zatížení způsobené například odložením předmětů.

6.5.2 Ohyb převisu konstrukce

Jak je možné vidět na Obrázek 32, v přední části autosampleru je poměrně výrazný převis, a proto je důležitá také kontrola ohybu nosníku při zatížení shora. Přístroje, které budou stát na autosampleru mají čtyři nohy, ale nelze předpokládat, že budou mít těžiště přesně ve středu. Aby byl výpočet na straně bezpečnosti, bude proveden pro případ, že 75 % hmotnosti umístěné na konstrukci autosampleru bude na předních nohách, a tedy v místě převisu. Při celkové váze přístrojů 40 kg se tedy jedná o zatížení 10 kg na zadních nohou a 30 kg na nohou předních. Při kontrole jednoho ze dvou vrchních nosníků namáhaných na ohyb je tedy počítáno se zatížením 50 N ve vzdálenosti 48 mm od zadní strany konstrukce a se zatížením 150 N ve vzdálenosti 408 mm. Použité vzdálenosti odpovídají reálnému rozvržení nosných nohou ostatních přístrojů od firmy Ecom spol. s r.o. Řešený případ je znázorněn na obrázku 52.



Obrázek 52 - Nákres řešeného nosníku

Pro výpočet reakcí R_A a R_B jsou použity statické rovnice rovnováhy, kde F_1 a F_2 (N) jsou vnější síly, a , b a c (mm) jsou vzdálenosti sil od levého nulového bodu a R_A a R_B (N) jsou reakce v podpěrách.

$$\sum M_A = 0 = F_1 \cdot a + F_2 \cdot c - R_B \cdot b = 50 \cdot 48 + 150 \cdot 408 - R_B \cdot 220 \quad (6)$$

$$R_B = \frac{50 \cdot 48 + 150 \cdot 408}{220} = 289 \text{ N} \quad (7)$$

$$\sum F = 0 = F_1 + F_2 - R_A - R_B \quad (8)$$

$$R_A = F_1 + F_2 - R_B = 50 + 150 - 289 = -89 \text{ N} \quad (9)$$

Následně je použit myšlený řez nosníkem ve vzdálenosti x , který odděluje část nosníku, která musí být v rovnováze, a na základě toho je sestavena rovnice ohybového momentu pro imaginární bod x .

$$M_x = -89 \cdot x - 50 \cdot (x - 48) + 289 \cdot (x - 220) = 150 \cdot x - 61180 \quad (10)$$

$$EI \frac{d^2y}{dx^2} = -M_x = -150 \cdot x + 61180 \quad (11)$$

Integrací rovnice 11 je získána rovnici sklonu:

$$EI \frac{dy}{dx} = -75 \cdot x^2 + 61180 \cdot x + c_1 \quad (12)$$

Další integrací rovnice sklonu vznikne rovnice deformace:

$$EI \cdot y = -25 \cdot x^3 + 30590 \cdot x^2 + c_1 \cdot x + c_2 \quad (13)$$

Pro nalezení konstant c_1 a c_2 je třeba využít okrajové podmínky, které nalezneme v bodech A a B, u kterých je známá jejich souřadnice a také nulová deformace. Pokud tedy do rovnice 13 dosadíme hodnoty z tabulky 5, získáme hledané hodnoty konstant, které jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 5 - Body okrajových podmínek

	A	B
Souřadnice x	0	220
Deformace y	0	0

Tabulka 6 - Koefficienty rovnice nalezené z okrajových podmínek

c_1	-5519800
c_2	0

Po dosazení konstant vzniká konečná podoba rovnice deformace pro imaginární bod x .

$$y = \frac{-25 \cdot x^3 + 30590 \cdot x^2 - 5519800 \cdot x}{E \cdot I} \quad (14)$$

Cílem této kontroly je zjistit ohyb nosníku na jeho samotném konci, a proto je za vzdálenost x v této rovnici dosazena délka nosníku 483 mm. Dosazením

modulu pružnosti v tahu E (MPa) a kvadratického momentu průřezu I (mm^4) je určen ohyb nosníku na jeho konci.

$$y = \frac{-25 \cdot 483^3 + 30590 \cdot 483^2 - 5519800 \cdot 483}{70\,000 \cdot 6\,700} = 3,53 \text{ mm} \quad (15)$$

Na základě výpočtu dochází k ohybu nosníku na jeho konci v délce 483 mm o 3,53 mm. Ve skutečnosti však bude průhyb menší, neboť šasi bude vyztuženo i vnějšími kryty. Maximální ohybový moment, který se bude vyskytovat v místě podpěry B, vypočteme dosazením jeho vzdálenosti 220 mm do rovnice ohybového momentu M_x :

$$M_{O,max} = M_x[220] = 150 \cdot 220 - 61180 = -28\,180 \text{ N} \cdot \text{mm} \quad (16)$$

Z vypočteného momentu získáme následující rovnicí maximální ohybové napětí, kterému bude zkoumaný nosník vystaven:

$$\sigma_{O,max} = \frac{M_{O,max}}{J} \cdot z_{max} = \frac{28\,180}{6700} \cdot 10 = 42,1 \text{ MPa} \quad (17)$$

Poměr meze kluzu a maximálního ohybového momentu je hledaná bezpečnost:

$$k = \frac{\sigma_k}{\sigma_{O,max}} = \frac{120}{42,1} = 2,85 \quad (18)$$

Maximální ohybu nosníku je tedy 3,53 mm a výsledný koeficient bezpečnosti je 2,85. Výpočet byl proveden pro nejméně výhodný případ rozložení sil a také bez uvažování bočních krytů, které konstrukci vyztuží a přenesou nemalou část sil. Navržená konstrukce tedy vyhovuje.

6.5.3 Chlazení

U chlazení je potřeba zkontrolovat, jestli má vybraný chladicí modul dostatečný výkon pro chlazení prostoru autosampleru a udržení nastavené teploty a jestli je tloušťka izolace tunelu pro chladicí vzduch dostatečná.

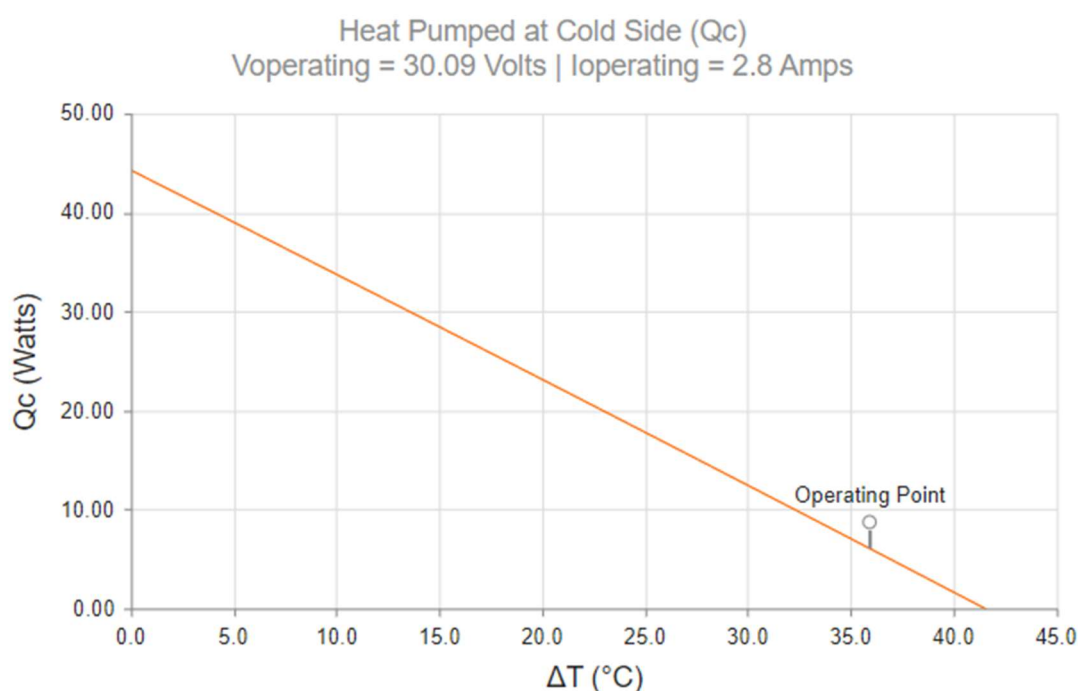
Pro výpočet vedení tepla stěnou chladicího tunelu je využita následující rovnice:

$$q_{kond} = \frac{\lambda \cdot A \cdot (T_{OUT} - T_{IN})}{d}, \quad (19)$$

kde λ ($\text{W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$) je tepelná vodivost materiálu stěny, A (m^2) je plocha přestupu tepla, d (m) je tloušťka stěny a T_{OUT} a T_{IN} ($^\circ\text{C}$) jsou povrchové teploty na vnější a vnitřní stěně tunelu. Pro tento konkrétní případ je tepelná vodivost izolace

$0,036 \text{ W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$, plocha stěny přestupu tepla určená z modelu $0,162 \text{ m}^2$ a tloušťka stěny izolace $0,02 \text{ m}$. Tímto předpokladem jsou eliminovány tepelné odpory vycházející z konvektivního přestupu tepla ze vzduchu a vypočtené tepelné ztráty jsou tedy vyšší, než budou ztráty reálné. Výpočet je tak na straně bezpečnosti.

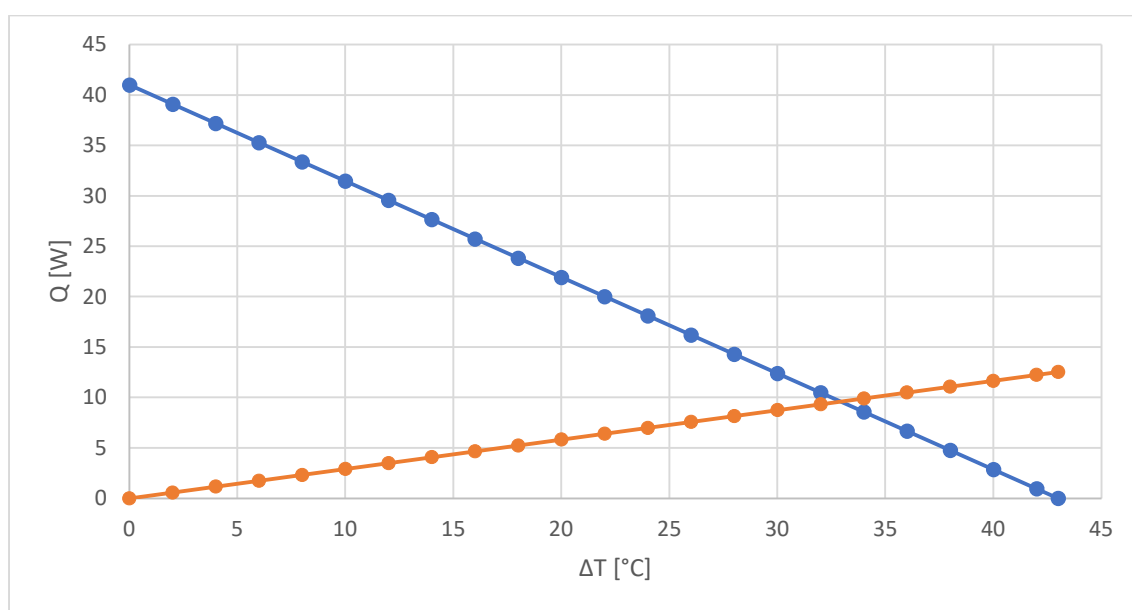
Chladicí modul AA-040-24-22 má sice udávaný maximální chladicí výkon 41 W , ale to pouze v případě, že rozdíl teplot na studené a chladné straně je roven nule. Reálný chladicí výkon je regulovaný pomocí elektrického proudu a napětí a přímo závisí na rozdílu teplot. Tato závislost je velice výrazná a významně ovlivňuje fungování zařízení. Za předpokladu, že bychom chtěli uvnitř autosampleru udržovat teplotu $4 \text{ }^\circ\text{C}$ a teplota okolí v laboratoři by dosahovala až $40 \text{ }^\circ\text{C}$, což je častá horní hranice pracovních podmínek konkurenčních autosamplérů, je chladicí výkon dle pracovní přímky modulu na obrázku 53 pouze $6,7 \text{ W}$. Při teplotním rozdílu $36 \text{ }^\circ\text{C}$ je přestup tepla skrz izolované stěny vzduchového tunelu dle rovnice (14) $10,5 \text{ W}$ a chladicí modul má v takové situaci výkon pouze $6,7 \text{ W}$. Chlazení je tedy pro takový případ nedostatečné.



Obrázek 53 - Závislost chladicího výkonu modulu na teplotní diferenci [26]

Jelikož ale není možné z důvodu rozměrových požadavků nahradit chladicí modul větší a výkonnější variantou, je třeba najít pro který teplotní rozsah je tato varianta dostačující. Na obrázku 54 je vynesena závislost chladicího výkonu

modulu (modře) a přestupu tepla kondukcí do prostoru tunelu (oranžově) v závislosti na rozdílu teplot. Průsečík těchto lineárních závislostí je ve 32,5 °C teplotní difference. Nejedná se o ideální pracovní bod, ale o moment, kdy chladicí modul je svým výkonem schopen akorát pokrýt teplo prostupující skrz izolaci tunelu (při zanedbání vnějších tepelných odporů). Pro funkční chlazení je tedy třeba pohybovat se pod hranicí teplotního rozdílu 32,5 °C. Ze závislosti chladicího výkonu na teplotním rozdílu vyplývá, že čím menší teplotní rozdíl, tím větší je efektivita chlazení.



Obrázek 54 - Závislost chladicího výkonu modulu a teplotních ztrát kondukcí na teplotní diferenci

Z obrázku 54 také vyplývá, že s menším teplotním rozdílem nejen roste chladicí výkon modulu, ale také klesá konduktivní přestup tepla do systému. Díky tomu se také zvětšuje přebytekový chladicí výkon, který lze vypočítat jako chladicí výkon modulu Q_C (W) mínus teplo vstupující do systému kondukcí Q_{KOND} (W), jak udává následující rovnice:

$$Q_{\text{přebytek}} = Q_C - Q_{KOND} \quad (20)$$

V takovém případě lze snížit chladicí výkon, šetřit tím elektrickou energii a pouze udržovat konstantní požadovanou teplotu v prostoru se vzorky. Druhou možností je využít přebytekový výkon pro ochlazování vzorku.

Pro ilustraci chlazení vzorku je dále uveden výpočet tepla, které by bylo nutné odebrat vzorku vody o objemu 2 ml při chlazení z 25 °C na 4 °C. Odebírané teplo se vypočítá následující rovnicí:

$$Q_{S1} = V_S \cdot \rho_S \cdot c_{p_S} \cdot (T_f - T_i) = 2 \cdot 10^{-6} \cdot 998 \cdot 4180 \cdot (25 - 4) = 175 \text{ J}, \quad (21)$$

kde $V_s (m^3)$ je objem vzorku v ampulce, T_f a $T_i (°C)$ jsou počáteční a požadovaná teplota, $\rho_s (kg \cdot m^3)$ je hustota vzorku a $c_{ps} (J \cdot kg^{-1} \cdot K^{-1})$ je měrná tepelná kapacita.

Pro ochlazení jedné ampulky se vzorkem vody je tedy třeba odebrat teplo 175 J. Kapacita podnosu pro ampulky o objemu 2 ml je 100 ks. Celkově tedy bude třeba odebrat stonásobné množství tepla, tedy:

$$Q_{S100} = Q_{S1} \cdot 100 = 17\,500 \text{ J} \quad (22)$$

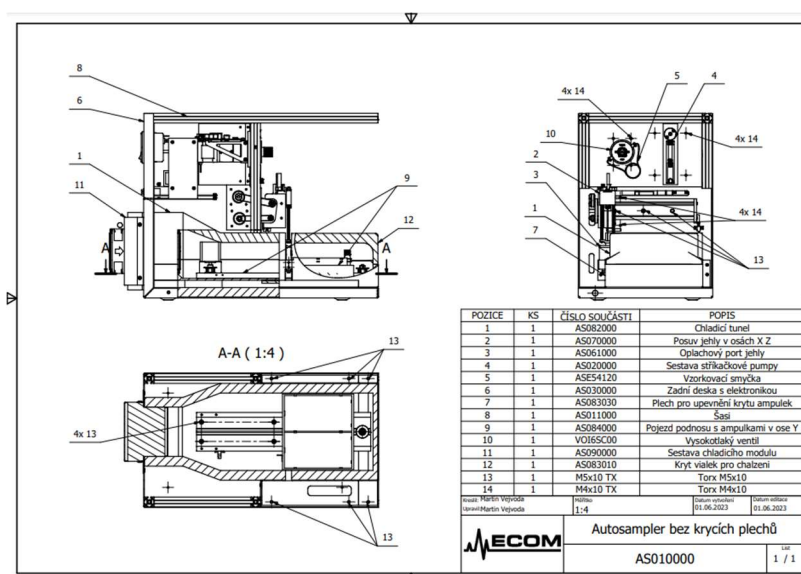
Dobu, za kterou by k chlazení došlo lze pak určit za pomoci středního chladicího výkonu $Q_S (W)$ pro teplotní rozsah 4 až 25 °C:

$$t = \frac{Q_{S100}}{Q_S - Q_{KOND}} = \frac{17500}{29,08 - 3,65} = 688 \text{ s} = 11,5 \text{ min} \quad (23)$$

Z uvedených výpočtů vyplývá, že tento chladicí modul společně se systémem chlazení je pro naše účely dostačující. Limitací tohoto chlazení je jednoznačně teplotní rozdíl okolí a vnitřku chladicího tunelu, kdy při rozdílu 32,5 °C je chladicí výkon modulu dostačující akorát pro pokrytí tepelných ztrát. Při teplotním rozdílu nad touto hranicí nestačí chladicí výkon modulu pro udržení požadované teploty v systému.

6.6 Výkresová dokumentace

Na základě popsaného modelu byla vytvořena výkresová dokumentace, která je přiložena k práci ve formě sestavných výkresů. Na obrázku 55 je vidět příklad jednoho z takových výkresů. V tabulce 7 je uveden seznam výkresů a jejich obsah.



Obrázek 55 - Příklad sestavného výkresu

Tabulka 7 - Seznam výkresové dokumentace

Číslo výkresu	Název
AS000000	Autosampler
AS010000	Autosampler bez krycích plechů
AS011000	Šasi
AS020000	Sestava stříkačkové pumpy
AS030000	Zadní deska s elektronikou
AS061000	Oplachový port jehly
AS070000	Posuv jehly v osách X Z
AS071000	Posuvný modul jehly v ose Z
AS072000	Posuvný modul jehly v ose X
AS082000	Chladicí tunel
AS084000	Pojezd podnosu s ampulkami v ose Y
AS090000	Sestava chladicího modulu
VOI6SC00	Vysokotlaký ventil

6.7 Ovládání autosampleru

Autosampler bude ovládán pomocí software na zařízení s operačním systémem Windows. Pro ovládání lze využít vlastní program firmy ECOM nazývaný Ecomac, který je využíván i všemi dalšími přístroji této firmy. Zařízení od ECOM jsou také kompatibilní se systémem Clarity. Komunikace se zařízením je zajištěna pomocí ethernetového nebo RS232 portu. [37]

6.8 Popis funkce z hlediska obsluhy

Před zapnutím autosampleru bude důležité zkontrolovat pracovní prostor posuvů, zda se v něm nenachází nějaký předmět, který by mohl v posuvu komponent překážet a případně poškodit zařízení. Po zapnutí autosampleru a ovládacího počítače bude možné v ovládacím software zapnout některé z funkcí jako například chlazení, oplach jehly a promývání systému. Před samotným procesem vzorkování bude potřeba naplněné ampulky se vzorky naskládat do přenosných držáků a také zkontrolovat dostatečné množství proplachovacího roztoku v nádobce umístěné mimo autosampler. Po připravení vzorků otevře uživatel dvířka autosampleru, vytáhne kryt z izolačního materiálu a uloží držáky

s ampulkami do pojízdného podnosu. V případě, že chce uživatel využít možnost chlazení, bude potřeba zpátky zasunout izolační kryt, který je nezbytný pro správné fungování chladicího systému. Chlazení bude možné zapnout i bez využití tohoto krytu, jelikož nedojde k žádnému poškození přístroje, ale pouze se výrazně sníží účinnost samotného chlazení. Posledním fyzickým krokem je uzavření dvířek autosampleru. V software si pak uživatel nastaví požadované parametry procesu.

6.9 Odhadovaná cena zařízení

Odhad výrobní ceny zařízení v tabulce 8 je proveden na základě zkušeností s dodavateli a ceně podobných dílů jiných přístrojů. Stříkačková pumpa a chladicí modul jsou kupované jako celek. Vysokotlaký ventil a elektroniku má Ecom spol. s r.o. vyvinuté univerzálně pro více zařízení a známe tedy jejich výrobní cenu. Ostatní položky jsou z části vyráběné ve firmě Ecom spol. s r.o. a dalšími dodavateli, ale jejich sestavování probíhá vždy ve firmě ECOM.

Tabulka 8 - Odhadovaná výrobní cena zařízení

Položka	Cena
Stříkačková pumpa	34 575 Kč
Šasi	4 300 Kč
Chladicí modul	5 280 Kč
Vysokotlaký ventil	36 750 Kč
Chladicí tunel	3 000 Kč
Posuv jehly	10 000 Kč
Posuv podnosu pro ampulky	2 000 Kč
Krycí plechy a dvířka	5 000 Kč
Elektronika	12 000 Kč
Podnosy pro ampulky	2 000 Kč
Oplachový port jehly	3 000 Kč
Další plechy	2 500 Kč
Spojovací materiál	10 000 Kč
Cena celkem	130 405 Kč

Celková odhadovaná výrobní cena zařízení je 130 405 Kč.

6.10 Srovnání s konkurencí

Navržený autosampler používá pull nástřikový mód, který je využíván i řadou konkurenčních zařízení. Díky využití posuvu podnosu s ampulkami v jedné z os, je konstrukční řešení posuvu jednodušší a méně mechanicky namáhané než řešení s pohybem samotné jehly ve všech třech osách nebo přenosu ampulky ke statické jehle. Tato varianta posuvu by měla umožňovat řádově stejné doby cyklu jako u konkurenčních autosamplerů a to v řádu desítek sekund. Toto zařízení umožňuje chlazení prostoru se vzorky s maximálním teplotním rozdílem 32,5 °C, což je lehce lepší, než mají některé autosamplery podobné úrovně jako například UltiMate 3000 WPS od ThermoFisheru [18]. Zároveň nedosahuje naše chlazení takové efektivity jako mají zařízení od výrobce Agilent s přídavným termostatem [7, 17].

7 Závěr

V rešeršní části práce jsem popsal základní konstrukční a procesní řešení dnešních konvenčních analytických autosamplerů a komponenty, které je tvoří. Dále jsem nastínil parametry konkurenčních autosamplerů.

V konstrukční části jsem nastínil dvě varianty možného řešení autosampleru, které by splňovaly vstupní požadavky vycházející z kompatibility zařízení s analytickou HPLC sestavou od Ecom spol. s r.o. Z těchto dvou řešení jsem na základě výhod a nevýhod vybral jedno, pro které jsem dále rozpracoval 3D model zařízení a zpracoval jsem výkresovou dokumentaci. Dále jsem uvedl popis všech základních komponentů, které navržené zařízení obsahuje, provedl kontrolní výpočty konstrukce a chlazení, odhadl výrobní cenu zařízení, provedl krátké porovnání s konkurenčními zařízeními a zpracoval sestavnou dokumentaci.

Součástí práce není patentová rešerše. Před vlastní výrobou přístroje by měla být patentová rešerše provedena.

Navržený autosampler splňuje všechny vstupní požadavky na rozměry, tlak, chlazení a jednoduchost konstrukčního řešení.

Při provádění kontrolních výpočtů chlazení jsem zjistil, že chlazení má limit z hlediska teplotní difference mezi teplotou vzorků a teplotou vnějšího prostředí 32,5 °C, u které je schopen udržet konstantní teplotu v prostoru se vzorky. Pokud bychom chtěli do budoucna navýšit tento limit, je zapotřebí vylepšit izolaci vzduchového tunelu nebo využít výkonnější chladicí modul. Vzhledem k prioritní potřebě dodržet dané vnější rozměry zařízení to ale nebude jednoduchý úkol. Pokud je teplotní rozdíl nižší než uvedená hodnota, zbývá přebytečný výkon, který je možno využít pro ochlazování vzorků. Tento fakt by v budoucnu stál za detailnější ověření například za využití CFD simulace, jelikož vzduch proudí okolo ampulek usazených v několika řadách za sebou.

Klíčové parametry navrženého autosamplery jsou shrnuty v následující tabulce 9.

Tabulka 9 - shrnutí klíčových parametrů navrženého autosamplery

Rozměry	497 x 280 x 382,5 mm
Nástřikový mód	Pull
Konstrukce posuvu	Jehla k ampulce (jehla ve dvou osách, podnos s ampulkami ve třetí ose)
Maximální tlak vysokotlakého oběhu	600 bar
Rozsah teplotního použití	4 – 40 °C
Max. rozdíl teplot pro chlazení	32,5 °C
Bezpečná nosnost konstrukce	40 kg
Odhadovaná výrobní cena	130 405 Kč

Použité zdroje a literatura

- [1] DOUŠA, Michal, ed. Autosamplery HPLC. HPLC.cz [online]. 2000, 15. listopadu 2007 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <http://www.hplc.cz/Teorie/autosamplers.html>
- [2] STEINER, Frank, Carsten PAUL a Michael W. DONG. HPLC Autosamplers: Perspectives, Principles, and Practices. LCGC North America [online]. 2019, 1 August 2019, 2019(37), 514-529 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.chromatographyonline.com/view/hplc-autosamplers-perspectives-principles-and-practices>
- [3] ARYAL, Sagar. HPLC: Definition, Principle, Parts, Types, Uses, Diagram. Microbe Notes [online]. 2018, 12 May 2023 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://microbenotes.com/high-performance-liquid-chromatography-hplc/>
- [4] THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. Dionex AS-AP Autosampler Operator's Manual. 07. 2012.
- [5] FRENCH, Laura. Buyer's Guide: HPLC Autosamplers. Labcompare: The Buyer's Guide for Laboratory Equipment [online]. 2009, 20 January 2023 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.labcompare.com/10-Featured-Articles/593843-Buyer-s-Guide-HPLC-Autosamplers/>
- [6] DOLAN, John W. Autosamplers: Part I — Design Features. LC Troubleshooting [online]. LCGC, 2001, April 2001, 19(4), 386 - 391 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://lctsbible.com/tsb-pdf/19042001.pdf>
- [7] AGILENT TECHNOLOGIES, INC. Agilent InfinityLab LC Series: 1260 Infinity II Preparative Autosampler User Manual [online]. D. Německo, 2019 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/G7157A-User.pdf>
- [8] RITTUN (SUZHOU) PRECISION MEASUREMENT SYSTEM CO., LTD. L-3320 Autosampler: User's Guide. 2020. Dostupné také z: https://lcms.cz/labrulez-bucket-strapi-h3hsga3/L_3320_User_Guide_Rittun_c12f4e4a94/L-3320_UserGuide_Rittun.pdf
- [9] WATERS CORPORATION. Waters 2707 Autosampler: Operator's Guide. A. The United States of America and Ireland, 2008.
- [10] How Do Thermoelectric Coolers (TECs) Work?. II-VI [online]. Coherent, 2022 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: https://ii-vi.com/how_do_thermoelectric_coolers_tec_work/
- [11] REICHL, Jaroslav a Martin VŠETIČKA. Encyklopedie fyziky: Peltierův jev [online]. 2006 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/911-peltieruv-jev>

- [12] DESJARDINS, Chris, Zhimin LI a Patricia. Carryover mitigation using needle wash solvent chemistry and autosampler features of a UPLC-MS system [online]. Milford, Massachusetts: Waters Corporation, 2019, 2019 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: https://lcms.cz/labrulez-bucket-strapih3hsga3/2019hplc_desjardins_carryover_7e8ed4329a/2019hplc_desjardins_carryover.pdf
- [13] KOZA, Stephan M., Corey E. REED a Weibin CHEN. Evaluating the Impact of LC System Dispersion on the Size-Exclusion Chromatography Analysis of Proteins [online]. Milford, Massachusetts: Waters Corporation, 2019, 2019 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720006337en.pdf>
- [14] HENRY, Richard A. Improving HPLC Column Selection and System Performance [online]. In: . Penn State University: Sigma-Aldrich Co., 2010, 2010 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/marketing/global/documents/248/930/t410170h.pdf>
- [15] High Pressure Valves [online]. 2010 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: https://www.labicom.cz/cogwpspogd/uploads/2016/07/idexhs_catalog_valves.pdf
- [16] CHEMINERT INJECTORS AND SELECTORS. VICI [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: https://www.vici.com/cval/c1cf_mic.php
- [17] AGILENT TECHNOLOGIES. Agilent 1260 Infinity High Performance Autosampler: User Manual. 02. Německo: Agilent Technologies, 2014. Dostupné také z: https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/G1367-90014_HiP-ALS_USR_EN.pdf
- [18] THERMO FISHER SCIENTIFIC. UltiMate 3000 Series:: WPS-3000 Autosamplers (SL, TBSL, RS, TBRS, TXRS). 2013. Dostupné také z: <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/manuals/MAN-LC-WPS-3000SL-RS-Operation-Sep13-DOC4828-2250-1-8.pdf>
- [19] SPARK HOLLAND. Alias™. Dostupné také z: https://www.sparkholland.com/wp-content/uploads/2022/06/Productbrochure_Spark_ALIAS.pdf
- [20] Autosampler Alias™. SunChrom [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.sunchrom.de/en/products/hplc/autosampler-alias.html>
- [21] ECS02 Gradient Analytical System. ECOM: HPLC from Prague [online]. 2019 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.ecomsro.com/ecs02-gradient-analytical-system-with-manual-injector>

- [22] Hliníkový profil BH 20-6, 20x20. Alusic profily [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: https://www.alusic-profily.cz/hlinikovy-profil-bh-20-6-20x20/?gclid=Cj0KCQjwjryjBhD0ARIsAMLvnF-FR3VoYrcZEndoC4DMU6aInWURioymevHurNCEYOaQ5tQD6MU3dE8aAnULEALw_wcB
- [23] Úhelník do drážky, BH 20-6. Alusic profily [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.alusic-profily.cz/uhelnik-do-drazky-serie-bh-20-6-se-srouby/>
- [24] Matice M5 do drážky BH 20-6. Alusic profily [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.alusic-profily.cz/matice-kladivkova-serie-bh-20-6-m5/>
- [25] Syringe Pump: C-Series Syringe Pumps. Tricontinent [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.tricontinent.com/en-us/c-series-syringe-pumps>
- [26] PowerCool Series Thermoelectric Cooler Assembly: AA-040-24-22. Laird: Thermal Systems [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://lairdthermal.com/products/thermoelectric-cooler-assemblies/peltier-air-conditioners/AA-040-24-22>
- [27] Drylin® flange lead screw nut, dryspin® high helix thread, zero backlash, JFRM. Igus: motion plastics [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.igus.cz/product/813?artNr=DST-JFRM-ZB-0001-DS5X5>
- [28] Drylin® N guide rail, installation size 80. Igus: motion plastics [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.igus.cz/product?artNr=NS-01-80>
- [29] Drylin® N guide carriage installation size 80 iglidur® J sliding element. Igus: motion plastics [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.igus.cz/product/924?artNr=NW-02-80>
- [30] ECVA 2000 Valve Actuator Embedded for all Vici valve heads for LC and GC. ECOM: HPLC from Prague [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.ecomsro.com/ecva2000-valve-actuator-embedded>
- [31] Iglidur® G, sleeve bearing, mm. Igus: motion plastics [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.igus.cz/product/1?artNr=GSM-0405-06>
- [32] Drylin® N guide rail, installation size 17. Igus: motion plastics [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.igus.cz/product/722?artNr=NS-01-17>
- [33] ALUMERO. EN AW-6060: Data Sheet. 2020. Dostupné také z: https://www.alumerogroup.eu/fileadmin/user_upload/downloads/folder/technologien/ALUMERO_Legierungen_EN-AW-6060_EN.pdf
- [34] ŘEZNÍČEK, Jan. *PRUŽNOST A PEVNOST II: Komentované přednášky*. Praha: Fakulta strojní České vysoké učení technické v Praze, 2009.

[35] Chromatografie [online]. 1. lékařská fakulta a Univerzita Karlova [cit. 2023-06-07]. ISSN 1804-6517. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/w/Chromatografie>

[36] DOLAN, John W. How Does It Work?: Part III: Autosamplers. LCGC North America [online]. LCGC, 2016, 1 July 2016, 2016(34), 472-478 [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.chromatographyonline.com/view/how-does-it-work-part-iii-autosamplers>

[37] Software. ECOM: HPLC from Prague [online]. [cit. 2023-06-07]. Dostupné z: <https://www.ecomsro.com/support/software>

Seznam obrázků

Obrázek 1 - Schéma HPLC systému [3]	12
Obrázek 2 - Push mód při natažení vzorku pomocí stříkačkové pumpy do vyrovnávací smyčky [4]	13
Obrázek 3 - Push mód při vytlačení vzorku z vyrovnávací smyčky k ventilu [4] ...	13
Obrázek 4 - Push mód při otočení ventil a plnění vzorkovací smyčky [4]	14
Obrázek 5 - Push mód při nástřiku [4]	14
Obrázek 6 - Pull mód při natažení vzorku [4]	15
Obrázek 7 - Pull mód při plnění vzorkovací smyčky [4]	16
Obrázek 8 - Pull mód po dokončení natažení vzorku [4]	16
Obrázek 9 - Pull mód po přepnutí ventilu do pozice "inject" [4]	17
Obrázek 10 - Schéma kroků split-loop módu se stříkačkovou pumpou ve vysokotlakém oběhu [1]	18
Obrázek 11 - Split-loop mód, výchozí postavení před cyklem [7]	19
Obrázek 12 - Split-loop mód, ventil v poloze bypass a natažení vzorku [7]	19
Obrázek 13 - Split-loop mód, jehla v oplachovacím portu [7]	20
Obrázek 14 - Split-loop mód, jehla ve vysokotlakém portu a nástřik vzorku [7]..	20
Obrázek 15 - Schéma kroků split-loop módu se stříkačkovou pumpou mimo vysokotlaký oběh [1]	21
Obrázek 16 - Rozložení kapalin v potrubí při plném nástřiku [9]	22
Obrázek 17 - Rozložení kapalin v potrubí při částečném nástřiku [9]	22
Obrázek 18 - Rozložení kapalin v potrubí při μ L snímacím nástřiku [9]	22
Obrázek 19 - Konstrukční řešení pohybu jehly [1]	23
Obrázek 20 - Schéma Peltierova článku [10]	26
Obrázek 21 - Schéma chlazení s přídavným termostatem [7]	27
Obrázek 22 - Schéma zapojení vysokotlakého ventilu při push módu [4]	30
Obrázek 23 - Schéma zapojení vysokotlakého ventilu při pull módu [4]	30
Obrázek 24 - Návrh konstrukčního řešení úpravy pro minimalizaci tlakových rázů při přepínání vysokotlakých ventilů [16]	31
Obrázek 25 - HPLC sestava od firmy ECOM spol. s r.o. [21]	33
Obrázek 26 - Rozložení komponentů	37
Obrázek 27 - Rozložení komponentů, pohled z boku	37
Obrázek 28 - Rozložení komponentů, pohled z předu	38
Obrázek 29 – hliníkový profil šasi [22]	39
Obrázek 30 – Rozměry hliníkového profilu [22]	39
Obrázek 31 – Spojovací úhelník hliníkových profilů [23]	39
Obrázek 32 – Šasi autosampleru	40
Obrázek 33 – Matice M5 do hliníkových profilů pro upevnění plechů [24]	40
Obrázek 34 – Stříkačková pumpa [25]	41
Obrázek 35 – Řez chladicí sestavy	42
Obrázek 36 – Chladicí tunel	42
Obrázek 37 – Chladicí modul [26]	43

Obrázek 38 – Výkres chladicího modulu [26].....	44
Obrázek 39 – Vysokotlaké ventily od firmy Ecom spol. s r.o. [30]	44
Obrázek 40 – Sestava posuvu jehly v horizontálním a vertikálním směru	45
Obrázek 41 – Horizontálně posuvný modul s jehlou	46
Obrázek 42 – Matice vodícího šroubu [27]	46
Obrázek 43 – Vertikálně posuvný modul s jehlou	47
Obrázek 44 – Výkres posuvné lišty podnosu [28]	48
Obrázek 45 - Upevnění jehel v posuvném modulu.....	49
Obrázek 46 – Délky jehel	50
Obrázek 47 - Oplachový port jehly, zobrazení v řezu.....	51
Obrázek 48 - Panel s elektronikou	52
Obrázek 49 - Konečná vnější podoba autosampleru zředu	53
Obrázek 50 - Konečná vnější podoba autosampleru zezadu	53
Obrázek 51 - Varianty vzpěru [34].....	55
Obrázek 52 - Náčrt řešeného nosníku	56
Obrázek 53 - Závislost chladicího výkonu modulu na teplotní diferencí [26].....	59
Obrázek 54 - Závislost chladicího výkonu modulu a teplotních ztrát kondukcí na teplotní diferencí.....	60
Obrázek 55 - Příklad sestavného výkresu.....	61

Seznam tabulek

Tabulka 1 - Parametry konkurenčních autosamplerů [7,8,17,18,19,20]	32
Tabulka 2 - Vlastnosti stříkačkové pumpy [25]	41
Tabulka 3 - Vlastností chladičího modulu [26]	43
Tabulka 4 - Rozměry posuvné lišty podnosu [28,29]	48
Tabulka 5 - Body okrajových podmínek	57
Tabulka 6 - Koeficienty rovnice nalezené z okrajových podmínek	57
Tabulka 7 - Seznam výkresové dokumentace	62
Tabulka 8 - Odhadovaná výrobní cena zařízení	63
Tabulka 9 - shrnutí klíčových parametrů navrženého autosampleru	66

Seznam příloh

Číslo	Název	Počet stran
AS000000	Autosampler	1x A3
AS010000	Autosampler bez krycích plechů	1x A3
AS011000	Šasi	1x A3
AS020000	Sestava stříkačkové pumpy	1x A4
AS030000	Zadní deska s elektronikou	1x A3
AS061000	Oplachový port jehly	1x A4
AS070000	Posuv jehly v osách X Z	1x A3
AS071000	Posuvný modul jehly v ose Z	1x A3
AS072000	Posuvný modul jehly v ose X	1x A3
AS082000	Chladicí tunel	1x A3
AS084000	Pojezd podnosu s ampulkami v ose Y	1x A3
AS090000	Sestava chladicího modulu	1x A3
VOI6SC00	Vysokotlaký ventil	1x A4