

УДК 543.544, 517.958

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ ФРАКЦІОНУВАННЯ ПРОБИ З АМІНОКИСЛОТАМИ В МІКРОФЛЮЇДНІЙ ЕЛЕКТРОХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНІЙ СИСТЕМІ

© 2007 К.М. Музика*, О.М. Білаш*

Досліджено процес фракціонування проби з амінокислотами (триптофан, тирозин, пролін, метіонін), що мігрує в буферному розчині в прямому сепараційному каналі з поліметилметакрилату мікрофлюїдної електрохемілюмінесцентної системи капілярного електрофорезу за різних умов (напруга 1 кВ і 2кВ, довжини сепараційного каналу 2 і 5 см, рН 4 та 7). На базі розробленої та реалізованої методом кінцевих різниць моделі електрокінетичного руху проби обчислено характер розподілу даних амінокислот вздовж зони проби. Відмічено, що найшвидше розділення амінокислот становить 4 с. **Ключові слова:** амінокислоти, капілярний електрофорез, електрохемілюмінесценція, метод кінцевих різниць, мікрофлюїдна система.

1. Вступ

У клінічній практиці існує важлива задача кількісного визначення амінокислот (АМК), оскільки вони є діагностично значущими компонентами біологічних рідин людини [1, 2].

Для аналітичного визначення АМК існує безліч методів, зокрема паперової, тонкошарової, іонообмінної та газової хроматографії, а також ферментативні й ізотопні методи [3]. Однак дані методи вже не відповідають сучасним вимогам клінічних лабораторних досліджень: достовірного високошвидкісного аналізу при зниженні його вартості та збереженні метрологічних характеристик. Це змушує шукати альтернативу — створювати аналітичні системи нового покоління, що відповідають переліченим вимогам.

З використанням мікросистемних технологій стало можливим реалізовувати пристрої пробопідготовки та детектування в межах одного пристрою на новому технологічному рівні — в форматі «на чипі», що дає можливість високошвидкісного, високоселективного, високочутливого аналізу. В світовій науковій літературі даний напрямок фігурує під різними назвами: Micro Total Analytical Systems, Lab-on-a-chip, Microfluidic Chip [4-9].

Безпосередній аналіз АМК у біохімічних зразках (кров, сеча) без попереднього фракціонування практично неможливий. Сепарація підвищує чутливість наступного аналітичного вимірювання та підвищує рівень інформації, що отримується при аналізі. До одних із найсучасніших і найперспективніших методів фракціонування відноситься капілярний електрофорез (КЕФ), що увібрав у себе всі кращі якості хроматографічних методів і електрофорезу [10]. Особливу увагу привертає його реалізація на чипі [11]. При цьому не потрібно прецизійних насосів високого тиску, необхідних для рідинної хроматографії, є незрівнянно меншою витрата буферних розчинів та реактивів.

Одним із прикладів швидкісного фракціонування АМК у чип-форматі, представлений в роботах [9, 12]. Відтоді, аналіз АМК на чипі розвивається переважно з використанням флуоресцентного [13], хемілюмінесцентного [14, 15] кондуктометричного [16] та електрохімічного [17, 18] детектування.

Оскільки в задачах медичного аналізу АМК присутні в біопробах в дуже низьких вмістах [1,2], то їх надійне детектування в мікрофлюїдних чипах (МФЧ) із нанолітровими об'ємами мікрореакторів вкрай ускладнено. Тому для забезпечення високої селективності та достовірності аналізу в мініатюризованих системах перш за все дуже важливо обрати відповідний метод детектування.

До одного з найчутливіших методів детектування відноситься електрохемілюмінесцентний (ЕХЛ) метод. За рахунок можливості виготовлення мікроелектродів та іммобілізації електрохемілюмінофорів-реагентів на їх поверхні при використанні відповідних технологій ЕХЛ-метод може бути успішно адаптованим у МФЧ [19].

* Харківський національний університет радіоелектроніки, лаб. Аналітичної оптикоелектроніки, 61166, Україна, м. Харків, пр. Леніна, 14 E-mail: mkm@kture.kharkov.ua

Однак чип-реалізація КЕФ-ЕХЛ для визначення АМК представлена одиничними роботами [20, 21]. Це пояснюється не тільки відсутністю методик ЕХЛ-визначення АМК, а й складністю досягнення адекватного розділення піків суміші АМК в пробі при проведенні КЕФ. Останнє, як зазначалось вище, значною мірою визначає ефективність проведення ЕХЛ-аналізу. В свою чергу ефективність проведення КЕФ суттєво залежить від низки параметрів: топології (довжини) сепараційного каналу, прикладеної напруги та рН середовища фракціонування. Це робить актуальним проведення математичного моделювання сепарації проби з АМК для осмисленого вибору оптимальних параметрів ще до етапу конструкторсько-технологічних робіт із виготовлення МФЧ.

Інтерпретації поведінки проби в каналах мікросистем із точки зору математичного моделювання присвячено низку робіт [22-24]. В основному в них розглядався електрокінетичний рух проби в каналі круглого перерізу, що пояснюється частим використанням довгого кварцового капіляру для проведення КЕФ, у тому числі в сучасних ЕХЛ-системах [25-27].

У даній роботі розглянуто випадок реалізації КЕФ і ЕХЛ на МФЧ з поліметилметакрилату (ПММА) з прямим транспортно-сепараційним каналом трапецеподібного перерізу шириною 200 мкм. Це зумовлено наявністю технологій мікровиготовлення (лазерної абляції) та прагненням адаптації на мікрочипі ЕХЛ-методу з урахуванням робіт [28, 29].

Мета роботи полягає в дослідженні чисельними методами процесу фракціонування проби з низкою АМК (триптофану (Trp), тирозину (Tyr), проліну (Pro), метіоніну (Met)) для оцінки розподілу даних АМК вздовж зони проби, що мігрує в буферному розчині в прямому сепараційному каналі МФЧ. Для цього необхідно вирішити наступні задачі: розглянути базові теоретичні положення, що стосуються електрокінетичного руху проби за КЕФ та фізико-хімічних властивостей АМК важливих при КЕФ, розробити математичну модель електрокінетичного руху проби в транспортно-сепараційному каналі мікрофлюїдної системи з чип-реалізацією КЕФ і ЕХЛ за напруг 1 і 2кВ, довжин 2 і 5 см рН 4 та 7, обґрунтувати граничні умови, провести чисельне моделювання розподілу АМК вздовж зони проби, інтерпретувати отримані результати.

2. Теоретична частина

КЕФ — електроміграційний метод розділення, що базується на відмінності в електрофоретичній рухливості часток речовини, які рухаються в електричному полі [10].

При застосуванні КЕФ канали мікрочіпу заповнюють буфером, а пробу завантажують і транспортують по каналу електрокінетичним способом. При цьому у системі діє механізм розділення проби на зони, що супроводжується їх розширенням (дисперсією) по мірі руху вздовж каналу [30]. За КЕФ значення рН та напруженості поля у всьому просторі каналу залишаються постійними. Призначення буфера за цього методу розділення — підтримування сталого значення рН та забезпечення транспортного потоку. Значення рН буфера визначає знак заряду іонів проби.

Вплив рН на рух проби до зони детектування пояснюється двома причинами. По-перше, на розділення, що базується на електрофоретичній міграції, у більшій чи меншій мірі накладається електроосмотичний потік, на величину якого впливає дисоціація поверхневих груп матеріалу каналу. По-друге, рухливість іонів визначається мірою їх дисоціації в буферному розчині, а отже, його значенням рН.

Кислотно-основні властивості амінокислот внаслідок їх дипольності дуже залежать від рН середовища. В області рН 4-9 всі АМК поведуться або як кислоти (донори протонів), або як основи (акцептори протонів).

Повний (сумарний) заряд (алгебраїчна сума всіх позитивних і негативних зарядів) АМК залежить від рН, тобто від концентрації протонів у розчині. Заряд АМК можна змінити, варіюючи рН. Значення рН, при якому сумарний заряд АМК дорівнює нулю й тому вона не переміщається в постійному електричному полі, називається її ізоелектричною точкою (pI). Ізоелектрична точка знаходиться посередині між найближчими значеннями pKs компонентів проби (Ks — константа дисоціації).

АМК несуть принаймні дві кислотні групи, що слабо іонізуються, $-\text{COOH}$ і $-\text{NH}_3^+$. У розчині ці групи перебувають у двох формах, зарядженій та незарядженій, між якими підтримується протонна рівновага. Уявлення про кислотно-основну рівновагу в розчинах амінокислот особли-

во важливе при їх фракціонуванні з аналітичною метою за допомогою КЕФ. За КЕФ АМК відбувається за наступною схемою: аніонні або катіонні форми АМК рухаються в напрямку відповідного електрода, цвіттер-іони не рухаються. Підбираючи відповідні буферні системи, можна розділяти будь-які АМК.

3. Математична модель електрокінетичного руху проби

При розробці математичної моделі електрокінетичного руху проби в буферному розчині в прямому сепараційному каналі мікрофлюїдної платформи враховувалось те, що на відміну від вискоєфективної рідинної хроматографії, де на характер руху проби впливають повздовжня, вихрова дифузія, складова масопереносу, — за капілярного електрофорезу до уваги приймається виключно параметр повздовжньої дифузії. Тому, модель базувалась на рівнянні конвективної дифузії [31] з урахуванням лише параметру повздовжньої дифузії та додаткового врахування електрокінетичної складової швидкості. Таким чином, розроблена математична модель має вигляд:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} - u \frac{\partial c}{\partial x},$$

де $c = c(x, t)$ — розподіл концентрації речовини;

D — коефіцієнт молекулярної дифузії речовини в буферному розчині, (см²/с);

x — аксіальна координата, (см);

u — швидкість електрокінетичного переміщення речовини в буферному розчині (см/с), $u = \mu_{EK} \times E = L^2/t$

(L — довжина капіляра від місця введення проби до детектора):

t — час переміщення (с); $\mu_{EK} = \mu_{EF} + \mu_{EOC}$ — електрокінетична рухливість:

μ_{EF}, μ_{EOC} — електрофоретична та електроосмотична рухливості, (см²/В×с);

Зауважимо, що величина дифузії описує процес розмивання зони, а електрокінетична складова відображає швидкість руху речовини в буферному розчині під дією напруги, прикладеної до кінців каналу. При цьому, для правомірності використання розробленої моделі у тонкому капілярі було прийнято наступні обмеження: а) дзета-потенціал на стінках мікроканалу однорідний; б) товщина подвійного електричного шару набагато менша в порівнянні з розмірами перерізу мікроканалу; в) стінка каналу є електрично ізольованою; г) низькі числа Рейнольдса (потік ламінарний); е) характеристики потоку однорідні; ж) вхідний і вихідний потоки паралельні. Дані обмеження не суперечать головним базовим принципам математичного моделювання в мікрофлюїдиці — гіпотези суцільного середовища та ламінарності конвективного потоку [22].

4. Чисельний розв'язок моделі електрокінетичного руху

Розроблена модель реалізовувалась методом кінцевих різниць із застосуванням апарату матричних обчислень в пакеті MatLab. Процедура дискретизації рівняння (за явною схемою «біжучого рахунку») полягала в наступному. На просторі час-відстань вводилась сітка з відповідними кроками: за часом Δt і простором Δx . Тоді значення шуканої функції в вузлі з координатами (i, j) , де i — номер вузла сітки за часом, j — за простором, запишеться як u_{ij} . Похідні, що входять до складу рівняння, були отримані з розкладення в ряд Тейлора:

$$c_j^{i+1} = c_j^i + \Delta x \frac{\partial c}{\partial x} + \dots \Rightarrow \frac{\partial c}{\partial x} \approx \frac{c_j^{i+1} - c_j^i}{\Delta x}.$$

Аналогічно може бути отримано вираз для другої похідної за координатою:

$$\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \approx \frac{c_{j+1}^i - 2c_j^i + c_{j-1}^i}{\Delta x^2}.$$

Таким чином, вихідне рівняння після дискретизації за явною схемою «біжучого рахунку» приймає наступний вигляд:

$$c_j^{i+1} = c_j^i + \lambda_{conv} (c_j^i - c_{j-1}^i) + \lambda_{dif} (c_{j+1}^i - 2c_j^i + c_{j-1}^i),$$

$$\text{де } \lambda_{conv} = u \frac{\Delta t}{\Delta x}, \lambda_{dif} = D \frac{\Delta t}{(\Delta x)^2}.$$

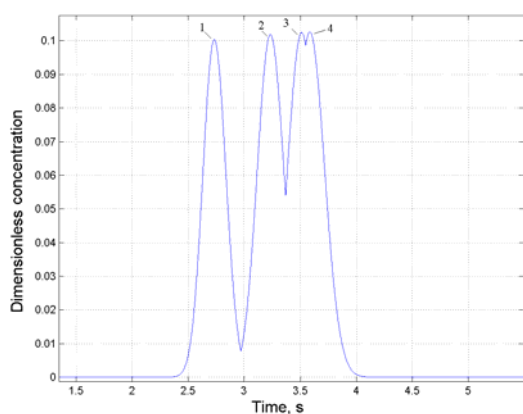
Співвідношення між кроками за часом Δt і за простором Δx вибиралось таким, щоб задовольнити умову стійкості чисельної схеми: $\lambda_{conv} = u \Delta t / \Delta x \leq 1$.

Оскільки проба вводиться в канал у режимі проточної інжекції, то на вході каналу значення концентрації прийнято рівним $c_0^i = 0$, тобто гранична умова представляє собою умову Діріхле. На виході каналу концентрація проби задовольняє умові Неймана і може бути записана у вигляді $c_{N+1}^i = c_N^i$.

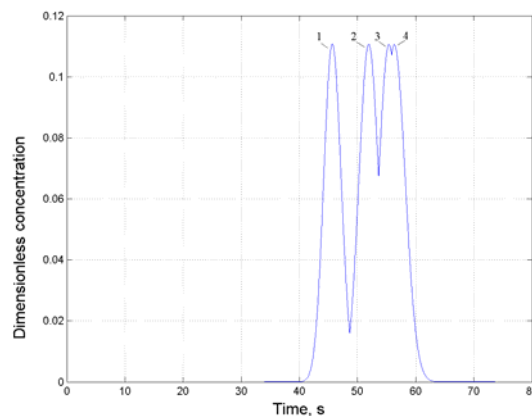
5. Результати розрахунків та їх обговорення

На базі розробленої моделі електрокінетичного руху проби проведено обчислювальний експеримент сепарації суміші амінокислот (рис. 1-3): 1— пролін (Pro); 2 — метіонін (Met); 3 — тирозин (Tyr); 4 — триптофан (Trp) вздовж зони проби в буферному розчині за різних значень рН буферного розчину, падіння напруги на кінцях каналу (U), довжин каналу (L). Оскільки емісія світла та електричний струм в ЕХЛ-аналізі пропорційні концентрації, то можна рахувати отримані графіки електрофореграмми, тобто розподілом піків інтенсивності сигналу в часі.

При виборі значень рН буферу для оптимізації розділення вищезазначених АМК ми керувались значеннями ізоелектричної точки (pI): Pro — 6,30; Met — 5,74; Tyr — 5,66; Trp — 5,89 [3]. Тобто підбирали таке значення рН, яке відрізняється від значення pI. При цьому, молекули АМК середовища, в якого значення рН буде менше за значення їх pI нестимуть сумарний позитивний заряд, а в протилежному випадку — сумарний від'ємний заряд [10]. Зауважимо, що оскільки зміна рН буферу впливає на зміну електроосмотичної мобільності, то саме ця особливість враховувалась нами при розрахунках із варіюванням рН. Експериментальні залежності μ_{EOC} в сепараційному каналі з ПММА брались із [32].



а)



б)

Рис. 1. Результати комп'ютерних розрахунків електрофореграми АМК:
а — рН = 4, U = 2 кВ, L = 2 см; б — рН = 4, U = 2 кВ, L = 5 см.

Оскільки в моделі враховується електрокінетична швидкість (u) одної АМК, яка прямопропорційна електрокінетичній рухливості, то електрофореграми кількох АМК в обчислювальному експерименті отримувались шляхом перерахунку u (за формулою $u = \mu_{EK} \times E$) для кожної АМК, що реалізовувалось програмно. При цьому графічні результати приводились на один графік. Відмітимо, що повна електрокінетична рухливість (μ_{EK}) кожної з АМК рівна сумі її електрофоретичної рухливості (μ_{EF}) та електроосмотичної рухливості (μ_{EOC}) обраного буферу за відповідного значення рН в мікроканалі з ПММА [32]. Крім того приймалось, що АМК не утворюють між собою іонні пари, тим самим не змінюючи свої електрофоретичні рухливості ($\mu_{EF} \times 10^{-9} \text{ см}^2/\text{В}\cdot\text{с}$), які відповідно складають: Pro — 30.7 ± 0.9 ; Met — 24.4 ± 0.2 ; Tyr — $21.5 \pm$

0.2; Trp — 20.8 ± 0.3 [33]. Електроосмотичні рухливості буферного розчину ($\mu_{\text{EOC}} \times 10^{-4} \text{ см}^2/\text{В}\cdot\text{с}$) становлять: за рН 4 — $2,18 \times 10^{-4}$; за рН 7 — 2,3.

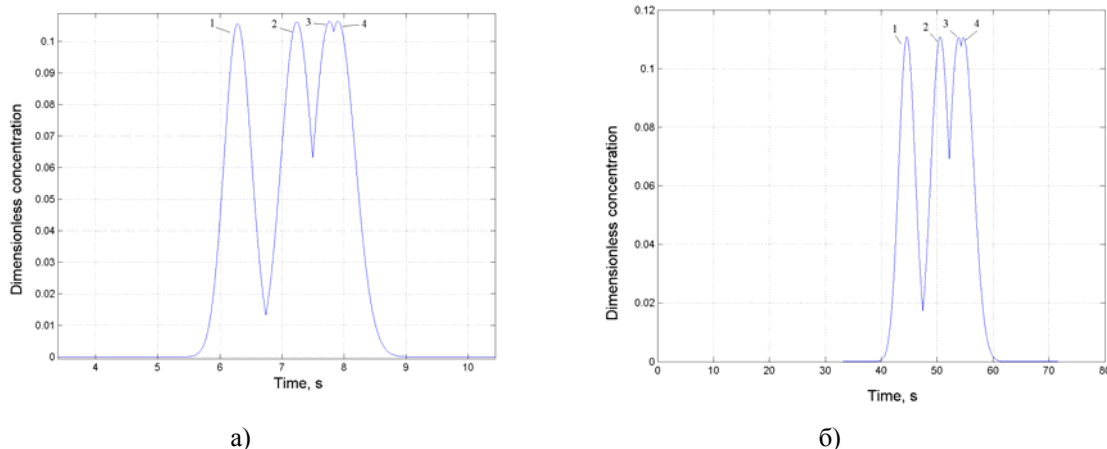


Рис. 2. Результати комп'ютерних розрахунків електрофореграми АМК:
а — рН = 7, $U = 1 \text{ кВ}$, $L = 2 \text{ см}$; б — рН = 7, $U = 1 \text{ кВ}$, $L = 5 \text{ см}$.

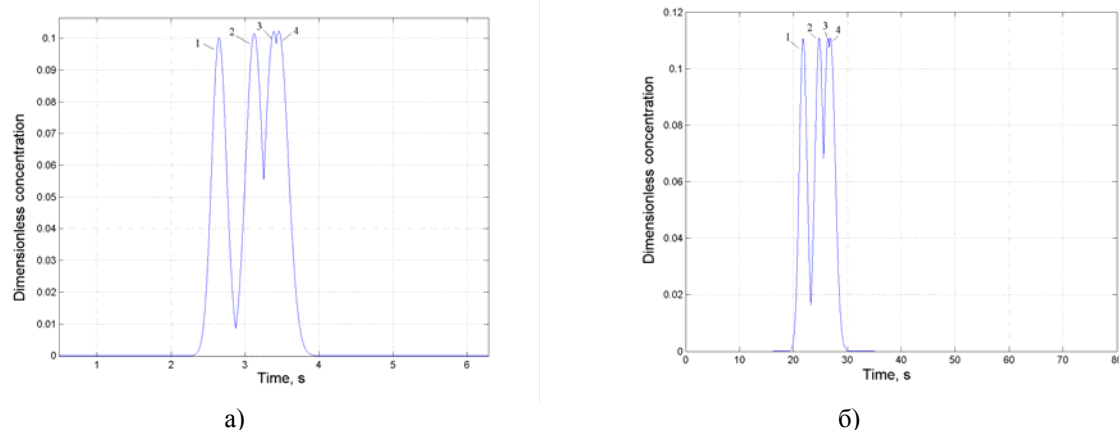


Рис. 3. Результати комп'ютерних розрахунків електрофореграми АМК:
а — рН = 7, $U = 2 \text{ кВ}$, $L = 2 \text{ см}$; б — рН = 7, $U = 2 \text{ кВ}$, $L = 5 \text{ см}$.

Значення коефіцієнту молекулярної дифузії АМК в буферному розчині приймалось усередненим для всіх АМК ($79,4 \times 10^{-7} \text{ см}^2/\text{с}$) [34], оскільки його вклад у переміщення нікчемно малий і на практиці ним часто нехтують.

Аналізуючи електрофореграми з однаковими значеннями рН сепараційного буферу, напруги (U), але за різних величин сепараційних каналів (L), варто відмітити:

- за рН = 7, $U = 1 \text{ кВ}$ час розділення за довжини каналу рівній 2 см становив 9 с, що майже в 6 разів менше, ніж за 5 см (рис. 2 а і 2 б);
- за рН = 7, $U = 2 \text{ кВ}$ час розділення за довжини каналу рівній 2 см становив 4 с, що майже в 8 разів менше, ніж за довжини 5 см (рис. 3 а і 3 б);

Аналізуючи випадок КЕФ АМК, за однакової довжини сепараційного каналу, однакової напруги, але різних значеннях рН (рис. 1 та рис.3), можна відмітити:

- зростання рН не впливає на час аналізу;
- при зростанні рН електрофоретичні піки звужуються, що вказує на підвищення ефективності розділення АМК.

Розглядаючи випадок рівності довжин сепараційного каналу, рН буферу, але різних напруг проведення КЕФ видно:

- зі зростанням напруги вдвічі час аналізу в сепараційному каналі довжиною 2 см скорочується з 9 с до 4 с (рис.2а, 3а);
- зі зростанням напруги вдвічі час аналізу в сепараційному каналі довжиною 5 см скорочується з 60 с до 30 с (рис.2б, 3б);

Порівнюючи отримані нами електрофореграми для АМК із експериментальними результатами [12], а саме, електрофореграмами АМК у МФЧ із сепараційним каналом довжиною 5,5 см за напруженості електричного поля 183 В/см (прикладена напруга приблизно 1 кВ), можна стверджувати про задовільний збіг результатів. Деяка несхожість може пояснюватись, очевидно, впливом відмінності в ширині і матеріалі каналу.

Висновки

Таким чином, аналіз результатів чисельного моделювання процесу фракціонування проби з АМК в ЕХЛ-КЕФ МФС за заданих напруг електричного поля (1 і 2 кВ), ширини сепараційного каналу з ПММА (200 мкм), при рН буферу рівних 4 і 7 показує, що у всіх розглянутих випадках адекватно розділись пролін, метіонін. Піки триптофану і тирозину перекрилились, що пояснюється практично однаковими значеннями їх електрофоретичних рухливостей. Це означає, що задані умови адекватні лише для розділення сумішей з 3-х АМК: Pro, Met, Tyr або Pro, Met, Trp. Отже, щоб розділити 4-х компонентну суміш з АМК Pro; Met; Tyr; Trp необхідно збільшити довжину сепараційного каналу.

Робота виконана в рамках проектів №G-77 та №4180 Українського науково-технологічного центру. Керівник проектів — проф. Рожицький М.М.

Література

1. Хмелевский Ю.В., Усатенко О.К., Основные биохимические константы человека в норме и при патологии. — К.: Здоров'я, 1987. — 156 с.
2. Хейль В., Коберштейн Р., Цавта Б., Референтные пределы у взрослых и детей. Преаналитические предосторожности. Пер. с англ. — М.: Лабпресс, 2001. — 176 с.
3. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х., Аминокислоты, пептиды, белки: Пер. с нем. — М.: Мир, 1985. — 456 с.
4. Jakeway S.C., Mello A.J., Russell E.L., Miniaturized Total Analysis Systems for Biological Analysis // *Fresenius J Anal Chem.* — 2000. — Vol. 366. — P. 525–539.
5. Weigl B.H., Bardell R.L., Cabrera C.R., Lab-on-a-Chip for Drug Development // *Advanced Drug Delivery Reviews.* — 2003. — Vol. 55. — P. 349–377.
6. Bilitewski U., Genrich M., Kadow S., Mersal G., Biochemical Analysis with Microfluidic Systems // *Anal Bioanal Chem.* — 2003. — Vol. 377. — P. 556–569.
7. Verpoorte E., Microfluidic Chips for Clinical and Forensic Analysis // *Electrophoresis.* — 2002. — Vol. 23. — P. 677–712.
8. Reyes D.R., Iossifidis D., Auroux P.-A. et al., Micro Total Analysis Systems. 1. Introduction, Theory, and Technology // *Anal. Chem.* — 2002. — Vol. 74. — P. 2623–2636.
9. Auroux P.-A., Iossifidis D., Reyes D.R. et al., Micro Total Analysis Systems. 2. Analytical Standard Operations and Applications // *Anal. Chem.* — 2002. — Vol. 74. — P. 2637–2652.
10. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В., Филлипов А.А., Селеменев В.Ф., Приданцев А.А., Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. — Воронеж, Водолей. 2004. — 528 с.
11. Gübitz G., Schmid M. G., Recent advances in chiral separation principles in capillary electrophoresis and capillary electrochromatography // *Electrophoresis* — 2004. — Vol. 23. — P. 3981–3996.
12. Munro N. J., Huang Z., Finegold D. N. Et al., Indirect Fluorescence Detection of Amino Acids on Electrophoretic Microchips // *Anal. Chem.* — 2000. — Vol. 72. — P. 2765–2773.
13. Fang Z.-L., Fang Q., Development of a low-cost microfluidic capillary-electrophoresis system coupled with flow-injection and sequential-injection sample introduction (review) // *Fresenius J. Anal. Chem.* — 2001. — № 370. — P. 978–983.
14. Liu B.-F., Ozaki M., Utsumi Y. et al., Chemiluminescence Detection for a Microchip Capillary Electrophoresis System Fabricated in Poly(dimethylsiloxane) // *Anal. Chem.* — 2003. — Vol. 75. — P. 36–41.
15. Jorgensen A. M., Mogensen K. B., Kutter J. P. et al., A Biochemical Microdevice with an Integrated Chemiluminescence Detector // *Sensors and Actuators B* — 2003. — Vol. 90. — P. 15–21.
16. Galloway M., Stryjewski W., Henry A. et al., Contact Conductivity Detection in Poly(methylmethacrylate)-Based Microfluidic Devices for Analysis of Mono- and Polyanionic Molecules // *Anal. Chem.* — 2002. — Vol. 74. — P. 2407–2415.
17. Ye J., Baldwin R. P., Determination of Amino Acids and Peptides by Capillary Electrophoresis and Electrochemical Detection at a Copper Electrode // *Anal. Chem.* — 1994. — Vol. 66. — P. 2669–2674.

18. Fung Y. S., Mo S. Y., Determination of Amino Acids and Proteins by Dual-Electrode Detection in a Flow System // *Anal. Chem.* — 1995. — Vol. 67. — P. 1121-1124.
19. *Electrogenerated Chemiluminescence*/ Ed. by Allen J. Bard, New York: Marcel Dekker, Inc, 342 p., 2004.
20. Arora A., Eijkel C. T. ey al., A Wireless Electrochemiluminescence Detector Applied to Direct and Indirect Detection for Electrophoresis on a Microfabricated Glass Device // *Anal. Chem.* — 2001. — Vol. 73. — P. 3282-3288.
21. Du Y., Wei H., Kang J. et al., Microchip Capillary Electrophoresis with Solid-State Electrochemiluminescence Detector // *Anal. Chem.* — 2005.— Vol. 77. — P.7993-7997.
22. Ghosal S., Electrokinetic Flow and Dispersion in Capillary Electrophoresis // *Ann. Rev. Fluid Mech.* — 2006.— Vol. 38. — P.309–338.
23. Буляница А.Л., Евстратов А.А., Рудницкая Г.Е., Метод моментов при расчете параметров каналов в микроразмерных системах // *Научное приборостроение.* — 2003. — Т. 13, № 4. — С. 28-40.
24. Tsai C.-H., Tai C.-H., et al., Experimental and numerical analysis of the geometry effects of low-dispersion turns in microfluidic systems // *J. Micromech. Microeng.* — 2005. — Vol.15. — P. 377–385.
25. Chiang M.-T., Whang C.-W., Tris(2,29-bipyridyl)ruthenium(III)-based Electrochemiluminescence Detector with Indium/ Tin Oxide Working Electrode for Capillary Electrophoresis // *Journal of Chromatography A.*— 2001. — Vol. 934. — P. 59–66.
26. Yin X.-B., Qiu H., et al., Capillary Electrophoresis Coupled with Electrochemiluminescence Detection Using Porous Etched Joint // *Anal. Chem.* — 2004. — Vol.76. — P. 3846-3850.
27. Liu J., Cao W. et al., Determination of Sulpiride by Capillary Electrophoresis with End-Column Electrogenerated Chemiluminescence Detection // *Clinical Chemistry* — 2002. — №7. — P.1049–1058.
28. Музыка К.М., Білаш О.М., Кукоба А.В. Технологія розробки сенсорної зони електрохемилюмінесцентної мікрофлюїдної системи на базі методу Лангмюра-Блоджетт // *Системи обробки інформації.* — 2007. — С. 64-66.
29. Музыка Е.Н. Технология создания аналитических микроустройств капиллярного электрофореза на базе метода лазерной абляции // *Восточно-Европейский журнал передовых технологий.* — 2007 — С. 28-31.
30. Остерман Л.А. Хроматография для белков и нуклеиновых кислот. — М.: Наука, 1985. 535 с.
31. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика: Учебное пособие. В 10 т. Т. VI. Гидродинамика. — 4-е изд., стер. — М.: Наука, 1988. — 736 с.
32. Galloway M., *Microelectrophoresis System Utilizing Conductivity Detection Analyzing Biological Molecules / A Dissertation of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in The Department of Chemistry.* — USA., 2004. — 109 с.
33. Zuskova I., Novotna A., Vcelakova K. et al., Determination of limiting mobilities and dissociation constants of 21 amino acids by capillary zone electrophoresis at very low pH, *Journal of Chromatography B* — 2006. — №841. — P. 129–134.
34. Svedberg & Eriksson-Quensel, *J. Amer. chem. Soc.* — 1934. — 56. — P. 409.

Поступила в редакцию 17 марта 2007 г.

Kharkov University Bulletin. 2007. №770. Chemical Series. Issue 15(38). K.M. Muzyka, O.M. Bilash. Investigation of fractionating process of probe with amino acids in microfluidic electrochemiluminescent system.

The process of fractionating of sample with aminoacids (tryptophan, tyrosine, proline, methionine) that migrate in buffer solution through straight separation channel with trapezoidal cross-section made of polymethylmethacrylate within microfluidic electrochemiluminescent capillary electrophoresis system under different conditions (voltage 1 kV and 2 kV, separation channel length 2 and 5 cm, pH 4 and 7) was investigated. The character of mentioned aminoacids distribution along sample zone was calculated on the base of developed model of electrokinetic sample motion that was implemented using finite-difference method. It was found that the fastest aminoacids separation is 4s. **Key words:** aminoacids, capillary electrophoresis, electrochemiluminescence, finite differences method, microfluidic system.