	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – Úprava vzorků krmiv a rostlinného materiálu 60092.1 – Úprava vzorků lyofilizací	Vydání	1
		Revize	0

ÚPRAVA VZORKŮ LYOFILIZACÍ

1 Účel a rozsah

Vzorky s vysokým obsahem vody lze šetrně vysušit lyofilizací. Tento způsob sušení je nutný pro stanovení reziduí nežádoucích látek v rostlinném materiálu, u kterých postup požaduje extrakci suchého vzorku.

2 Přístroje a pomůcky

- 1 Laboratorní lyofilizační zařízení, např. ALPHA1-2, (Christ).
- 2 Laboratorní mlýn nožový.
- 3 Velkoobjemový mrazicí box.
- 4 Laboratorní váhy.

3 Pracovní postup

Předúprava vzorku

Laboratorní vzorek určený k lyofilizaci se zamrazí na teplotu ≤ -18 °C a předběžně se zhomogenizuje rozmixováním v laboratorním mlýnku nebo se ve zmrzlém stavu nahrubo nadrtí. Pokud nehrozí znehodnocení vzorku před další analýzou, lze jej v čerstvém stavu nakrájet na menší kousky (tloušťka do 1 cm), navrstvit na lyofilizační misku a zamrazit.


Lyofilizace vzorku

Předupravený vzorek se navrství na lyofilizační misku ve vrstvě ≤ 2 cm, do vzorku se upevní teplotní sonda, miska se vzorkem se zabalí do fólie a zamrazí se na teplotu ≤ -18 °C. Lyofilizační zařízení se připraví a spustí dle návodu. Vloží se misky se zamraženým vzorkem a spustí se proces lyofilizace. Vyhříváním poliček pro uložení vzorků a kontrolou aktuální teploty ve vzorku a tlaku ve vymražovaném prostoru se udržují optimální podmínky blízké průběhu sublimační křivky. Proces lyofilizace je ukončen, když teplota uvnitř vzorku, snímaná po celou dobu teplotní sondou, dosáhne teploty vyhřívané poličky ($T \sim 20$ °C).

Lyofilizovaný vzorek se dále homogenizuje postupem vhodným pro suché vzorky.

Stanovení sušiny vzorku

Miska s lyofilizovaným vzorkem se zváží před zamražením a po procesu lyofilizace. Z rozdílu hmotnosti vzorku před a po sušení se zjistí ztráta vody lyofilizací. Pro potřebu

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – Úprava vzorků krmiv a rostlinného materiálu 60092.1 – Úprava vzorků lyofilizací	Vydání	1
		Revize	0

přepočtu výsledků na původní hmotnost vzorku se stanoví obsah sušiny analytického (lyofilizovaného) vzorku a vypočte se sušina původního vzorku podle vztahu

$$f_{pv} = f_{lyo} \times f_{suš} \qquad f_{lyo} = \frac{m}{m_o}$$

kde

f_{pv}	je sušina v původním (čerstvém) vzorku,
f_{lyo}	sušina v lyofilizovaném vzorku,
$f_{suš}$	sušina analytického (lyofilizovaného) vzorku,
m	hmotnost vzorku po lyofilizaci (g),
m_o	hmotnost vzorku před lyofilizací (g).

4 Optimalizace procesu lyofilizace

Ve spodní části lyofilizátoru je vymrazovací prostor, kde na chlazených spirálách ($T \sim -55 \text{ }^\circ\text{C}$) dochází za sníženého tlaku ke kondenzaci a vymrazování vodních par. V horní části kryté polykarbonátovým zvonem je nosič s pěti vyhřívateľnými poličkami, na které se umístí misky se vzorky. Teplota uvnitř vzorku se snímá teplotní sondou, která je zasunuta do vzorku.

Cílem je vést proces sublimace vody ze zmrzlého vzorku při hodnotách teploty T a tlaku p blízcích se průběhu sublimační křivky, tedy dostatečně zahřívát poličky a přivádět tak tepelnou energii do vzorku. Vzorky s vysokým obsahem vody a cukrů při nedostatečném zamrazení mohou v první fázi pěnit, protože při počátečním poklesu tlaku se prudce odpařuje voda a teplota ve vzorku se dostane nad kritickou hodnotu určenou sublimační křivkou. Vhodné počáteční nastavení teploty poličky se vzorky je $T_{shelf} = 0 \text{ }^\circ\text{C}$ a nastavení limitního tlaku v lyofilizátoru $p_{off} = 611 \text{ Pa}$ (trojný bod). Jakmile teplota uvnitř vzorku snímaná sondou začne výrazně klesat ($T_{sample} \leq -10 \text{ }^\circ\text{C}$), lze postupně zvyšovat vakuum (snížením pojistného tlaku pro otvírání ventilu až na $p_{off} = 1 \text{ Pa}$) a zvyšovat teplotu $T_{shelf} \geq 30 \text{ }^\circ\text{C}$. Po několika hodinách teplota ve vzorku začne stoupat a proces sušení lze ukončit, když $T_{sample} \sim T_{shelf}$. Pokud je uvnitř sušené hmoty stále voda, T_{sample} je výrazně nižší než nastavená T_{shelf} a při předčasném ukončení procesu by vzorek zavlhnul. Při optimálním průběhu procesu jsou vzorky rostlin vysušeny za (12 – 15) h. Delší dobu sušení vyžadují vzorky s vysokým obsahem cukru (řepa, paprika) a celé bobuloviny (rybíz).